



Title	Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) Is a Potential Marker for Cancer Stem Cells in Embryonal Rhabdomyosarcoma
Author(s)	中畠, 賢吾
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53902
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	中 島 賢 吾
論文題名 Title	Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) Is a Potential Marker for Cancer Stem Cells in Embryonal Rhabdomyosarcoma (アルデヒド脱水素酵素1 (ALDH1) は胎児型横紋筋肉腫において癌幹細胞マーカーとなりうる)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 近年、癌組織の一部に、正常幹細胞と類似した自己複製能と多分化能を有する少数の細胞が存在し、この細胞が大多数の癌細胞の供給源となって腫瘍全体を構成するという「癌幹細胞説」が提唱されており、この癌幹細胞が放射線や抗癌剤治療に対して抵抗性を示し、治療後に根絶を免れた癌幹細胞は、再発や転移・浸潤・播種などの癌の悪性進展をきたす原因となると考えられている。最近アルデヒド脱水素酵素1(ALDH1)の活性上昇を示す細胞群が、成人領域において癌幹細胞の性質を持ち、癌幹細胞のマーカーとなることが報告されているが、小児悪性固形腫瘍のALDH1活性を検討した報告は少ない。そこで小児軟部肉腫の中でも予後不良な横紋筋肉腫において、ALDH1活性上昇細胞群が癌幹細胞の性質を有するという仮説のもと、活性上昇群と非上昇群における薬剤耐性能、コロニー形成能、多分化能、造腫瘍能を比較検討した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 方法：胎児型横紋筋肉腫細胞株RDおよびKYM-1を用いて、フローサイトメトリーにより ALDH1活性上昇細胞の割合を調べ、活性上昇群と活性非上昇群に分離した。コロニー形成能はメチルセルロースゲルを塗布した6 well plateに播種し、コロニー数を計測した。多分化能は、脂肪細胞および神経細胞に分化する条件下で培養した後に細胞を染色し評価した。薬剤耐性能は実際の横紋筋肉腫の治療に用いられる薬剤であるビンクリスチン・シクロホスファミド・エトポシドを加えて培養した後、WST-8 assayで生存率を検討した。造腫瘍能は、NOD/SCIDマウスに活性上昇群と活性非上昇群の細胞を1×10^3個、1×10^4個ずつ皮下注射し、腫瘍形成の有無で評価した。 成績：RDおよびKYM-1において、ALDH1活性上昇細胞群はそれぞれ全体の3.9%、8.2%であった。薬剤耐性能については、RDおよびKYM-1において各薬剤ともに活性非上昇群に比べ活性上昇群の生存率が有意に亢進した。RDのコロニー形成能は、活性非上昇群では平均14.5個であったのに対し、活性上昇群では平均30.3個と著明に亢進した。また脂肪細胞および神経細胞への分化を表す細胞は、活性非上昇群に比べ活性上昇群で増加した。造腫瘍能は、1×10^3個および1×10^4個の活性上昇群を皮下注射したマウスでは腫瘍形成を認めたが、活性非上昇群では1×10^4個を皮下注射したマウスでは腫瘍形成を認めず、活性上昇群において造腫瘍能が有意に亢進していた。 次に活性上昇群と非上昇群の細胞を用いてリアルタイムPCRを施行したところ、活性上昇群においてABCトランスポーターの一種であるABCB1 (MDR1, Multiple Drug Resistance 1)、ABCG2 (BCRP, Breast Cancer Resistance Protein)、ABCA2の発現が亢進しており、これにより薬剤耐性能が上昇する可能性が示唆された。同様にStemness geneおよびOncogeneの発現を検討したところ、活性上昇群においてOncogeneであるc-Mycの発現に差は認めなかったが、Stemness geneであるSox2の発現の上昇を認めた。このことにより、Stemness geneの発現亢進がALDH1活性上昇細胞の幹細胞の性質の維持につながる可能性が示唆された。 〔総 括(Conclusion)〕 以上よりRDおよびKYM-1において、ALDH1活性上昇細胞群は高いコロニー形成能、薬剤耐性能、多分化能を持ち、さらに造腫瘍能の亢進を認めることから、胎児型横紋筋肉腫の癌幹細胞の性質を有すると考えられた。またALDH1が胎児型横紋筋肉腫における癌幹細胞マーカーとして臨床に応用できる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中島 賢吾

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授	奥山 宏臣
	副 査 大阪大学教授	森井 重一
	副 査 大阪大学教授	森 正樹

論文審査の結果の要旨

癌幹細胞は放射線や抗癌剤治療に対して抵抗性を示し、治療後に根絶を免れた癌幹細胞は、再発や転移・浸潤・播種などの癌の悪性進展をきたす原因となると考えられている。成人領域においてALDH1の活性上昇を示す細胞群が癌幹細胞の性質を持ち、癌幹細胞のマーカーとなることが報告されており、本研究では小児軟部肉腫の中でも予後不良な横紋筋肉腫において、ALDH1活性上昇細胞群が癌幹細胞の性質を有するという仮説のもと、活性上昇細胞群と非上昇細胞群における薬剤耐性能、コロニー形成能、多分化能、造腫瘍能を比較検討した。

胎児型横紋筋肉腫細胞株において、ALDH1活性上昇細胞群は非上昇細胞群と比較して高いコロニー形成能、薬剤耐性能、多分化能を持ち、さらに造腫瘍能の亢進を認めることから、胎児型横紋筋肉腫の癌幹細胞の性質を有すると考えられた。またALDH1が胎児型横紋筋肉腫における癌幹細胞マーカーとして臨床に応用できる可能性が示唆されたため、本研究内容は学位の授与に値するものと考ええる。