



Title	Tumorigenic Role of Orphan Nuclear Receptor NR0B1 in Lung Adenocarcinoma
Author(s)	小田, 知文
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54129
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

氏 名	小 田 知 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 9 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Tumorigenic Role of Orphan Nuclear Receptor NR0B1 in Lung Adenocarcinoma (肺腺癌における核内受容体NR0B1の腫瘍形成性における役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥村明之進 (副査) 教 授 川瀬 一郎 教 授 森 正樹

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

腫瘍幹細胞は腫瘍細胞の中でも治療抵抗性で再発の原因になる少数の細胞群であるが、その実態は不明な点も多い。特に肺腺癌においては腫瘍幹細胞およびそのマーカーは未だ同定されていない。NR0B1はX染色体p21に存在し、核内受容体であるDAX1蛋白をコードする。性分化に関与する他に、細胞を未分化の状態に維持する役割があると報告されている。我々はNR0B1を肺腺癌における癌幹細胞のマーカーの候補の一つと考え、肺腺癌細胞株、および臨床検体を用いてNR0B1の役割を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

肺腺癌細胞株 (A549) を培養し、Hoechst dye exclusion assayをflow cytometryで解析し、Main Population (MP) とSide-Population (SP) に階層分けした。NR0B1の発現をsemiquantitative RT-PCR法およびReal-Time RT-PCR法により解析したところ、SPにおいてより高い発現レベルであった。NR0B1の機能を検討するため、複数の腺癌細胞株でノックダウンを行った。その結果、次の機能においてノックダウン細胞株では有意な低下を認めることが判明した。1) 抗癌剤であるtopotecanに対する耐性 2) matrigel invasion assayにおける腫瘍浸潤能 3) in vitro colony形成能 4) NOD/Scidマウスにおける腫瘍形成能。これらの結果、NR0B1は肺腺癌において、少なくとも上記の機能に関与することが示唆された。次に、NR0B1遺伝子ノックダウン細胞におけるapoptosisおよびinvasion関連遺伝子発現を解析したところ、Bcl-2とMMP-2の発現量がコントロール群より低下していることがわかった。さらに、NR0B1の発現調節機構として、NR0B1転写開始部位付近にCpG配列が多数あることに着目し、bisulfite法にて検討したところ、epigeneticな発現制御機構が関与することが臨床検体を用いて明らかとなった。肺腺癌の臨床検体193症例を用いてNR0B1を免疫染色し、その発現レベルと予後に関して検討した。NR0B1の発現レベルの高い群は、5年生存率 (p<0.01) および再発率 (p<0.01) で有意差を認めた。χ²乗検定ではN因子 (p=0.021) および再発 (p<0.01) がNR0B1発現との間に正の相関を認めた。単変量解析ではT因子 (腫瘍径)、N因子 (リンパ節転移)、Stage、腫瘍径、NR0B1発現レベルが5年生存率および再発率で予後不良因子であった。多変量解析ではstage、腫瘍径、NR0B1発現レベルが5年生存率および再発率で予後不良因子であった。

〔 総 括 〕

肺腺癌細胞においてNR0B1遺伝子は、腫瘍浸潤能、抗癌剤耐性能、in vitroコロニー形成能、in vivoでの腫瘍形成に深く関わっており、その発現はepigeneticに制御されていた。また、肺腺癌においてNR0B1の発現が独立した予後規定因子となり得る可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

肺癌は固形がんの中でも主要な死因となっており、その死亡率は増加の一途にある。大腸がんや乳がんなどの固形癌におけるCancer Stem Cellの同定は報告されているが、肺癌におけるCancer Stem Cellの報告はされていない。肺腺癌細胞株のside populationに豊富に含まれるNR0B1遺伝子に注目し、肺腺癌におけるNR0B1の機能を解明することにより、NR0B1と肺腺癌のCancer Stem Cellの関連を検討し、さらに臨床例を用いてNR0B1の発現と予後との相関を解析した。

肺腺癌細胞においてNR0B1遺伝子は、腫瘍浸潤能、抗癌剤耐性能、in vitroコロニー形成能、invivoでの腫瘍形成に深く関わっており、その発現はepigeneticに制御されていた。また、肺腺癌においてNR0B1の発現が独立した予後因子となっていた。

これらの研究はNR0B1が肺腺癌におけるCancer Stem Cellのマーカーの一つになり得る可能性を示唆するものであり、予後とNR0B1の相関は今後の肺腺癌治療戦略の足がかりになり得るものである。よって学位の授与に値すると考えられる。