



Title	Epithelial-mesenchymal transition with expression of SNAI1-induced chemoresistance in colorectal cancer
Author(s)	星野, 宏光
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58118">https://hdl.handle.net/11094/58118</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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

〔 目 的 〕

ショウジョウバエから中胚葉形成に必須の分子として単離されたzinc-finger型の転写因子であるSNAI1はCDH1の発現を抑制することで上皮間葉移行(Epithelial-mesenchymal transition、以下EMT)を誘導することが報告されてきた。しかし、その病理学的特徴や化学療法耐性に対するEMT制御の大腸癌における役割は解明されていない。本研究においては、大腸癌におけるSNAI1発現の臨床病理学的特徴と化学療法耐性に対するEMT制御におけるSNAI1リン酸化の役割を検討した。

〔 方 法 〕

①2004年から2005年の手術症例30例の大腸癌組織パラフィン検体に対してSnail、Cdh1蛋白の免疫染色を行いその病理学的特徴を検討した。  
②大腸癌細胞株SW480にSNAI1野生型(以下WT)、2種類のリン酸化能欠損変異型(GSK-3βによる6箇所のリン酸化標的セリン残基をアラニン残基に置換したSNAI1-6SAと、8箇所置換したSNAI1-8SA)の各発現ベクターをリポフェクション法で導入し、G418による抗生剤選択を行った。これらの形質転換体に対してSNAI1発現とそのリン酸化抑制の生物学的意義を検討するため、形態学的観察、qRT-PCR法、浸潤アッセイにてEMT誘導を評価し、MTTアッセイにて化学療法耐性を評価した。

〔 成 績 〕

①臨床検体30例の免疫染色では、30例中20例(66.7%)の症例で腫瘍の先進部にSnail蛋白の発現が陽性であった。また、これらの症例では簇出部位(budding portion)にもSnail蛋白の発現が認められた。一方でCdh1蛋白の発現は、前記20例中15例(75.0%)で腫瘍の先進部の発現が表在部に比べて低下していた。  
②SNAI1-WT、SNAI1-6SAとSNAI1-8SAを導入したSW480は紡錘形で細胞極性を失ったEMTに特徴的な形態を示した。次にqRT-PCR法でSNAI1-WT、SNAI1-6SAとSNAI1-8SAを導入したSW480においてSNAI1が強制発現されていることを確認した。また、SNAI1-WT、SNAI1-6SAとSNAI1-8SAを導入したSW480において陰性対照に比較して有意なCDH1のmRNA発現低下を認め、SNAI1-6SAとSNAI1-8SAを導入したSW480は陰性対照とSNAI1-WTを導入したSW480に比較して有意なVIMのmRNA発現上昇を認めた(p < 0.001)。浸潤アッセイでは、SNAI1-6SAとSNAI1-8SAを導入したSW480は陰性対照に比較して有意に浸潤能が高かった(p < 0.01)。さらにこれらはSNAI1-WTを導入したSW480に比較しても有意に浸潤能が高かった(p < 0.01)。これらの結果より、SNAI1によってEMTが誘導され、その効果はSNAI1のリン酸化を抑制した方が高いことが分かった。MTTアッセイにおいて、5-FUに対するIC50は陰性対照、SNAI1-WT導入株、SNAI1-6SA導入株、SNAI1-8SA導入株でそれぞれ5.6 ± 2.0、23.6 ± 6.9、33.9 ± 13.9、34.3 ± 2.5 (ug/ml)であり、SNAI1-WT導入株、SNAI1-6SA導入株、SNAI1-8SA導入株のIC50は陰性対照のIC50に比較して有意に高かった(p < 0.05)。また、SNAI1-6SA導入株とSNAI1-8SA導入株のIC50は、SNAI1-WT導入株のIC50に比較しても有意に高かった(p < 0.05)。このことから、SNAI1の発現によって惹起される化学療法耐性はSNAI1のリン酸化を抑制した方が高いということが明らかとなった。

〔 総 括 〕

SNAI1はEMTを誘導することにより、大腸癌の浸潤だけでなく化学療法耐性にリン酸化を通じて重要な役割を果たすことが示された。SNAI1は大腸癌治療において新しい分子標的となりえるとともに、SNAI1のリン酸化を促進することが大腸癌の浸潤・転移を制御する一助となる可能性が示唆され、消化器癌の新たな分子標的療法の開発に向けて基盤構築に貢献した。

[91]

氏 名	星野宏光
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 24413 号
学位授与年月日	平成23年3月25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	Epithelial-mesenchymal transition with expression of SNAI1-induced chemoresistance in colorectal cancer (SNAI1発現が原因の上皮間葉移行により誘導される大腸癌の化学療法耐性)
論文審査委員	(主査) 教授 森 正樹 (副査) 教授 福澤 正洋 教授 野口眞三郎

## 論文審査の結果の要旨

星野宏光の博士学位論文は、臨床検体の免疫染色によって、大腸癌において腫瘍の先進部等浸潤性の高いと思われる部位に上皮間葉移行 (Epithelial-mesenchymal transition、以下EMT) 誘導因子Snail蛋白の発現が多く認められることを解明した。また大腸癌細胞株SW480にSNAI1野生型、2種類のリン酸化能欠損変異型の各発現ベクターを導入することで、SNAI1の発現によってEMTと化学療法耐性が惹起され、それらの効果はSNAI1のリン酸化を抑制した方が強いことを明らかにした。

これらの新しい知見は、SNAI1が大腸癌治療において新しい分子標的となりえることやSNAI1のリン酸化を促進することが大腸癌の浸潤・転移を制御する一助となる可能性を示唆し、消化器癌の新たな分子標的療法の開発に向けて基盤構築に貢献するものである。

よって、本博士論文は、大阪大学学位に値するものと認める。