



Title	Identification and Characterization of CD107a as a Marker of Low Reactive Oxygen Species in Chemoresistant Cells in Colorectal Cancer
Author(s)	北原, 知洋
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61535
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、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	北原 知洋
論文題名 Title	Identification and Characterization of CD107a as a Marker of Low Reactive Oxygen Species in Chemoresistant Cells in Colorectal Cancer (化学療法抵抗性大腸癌細胞における低活性酸素種マーカーとしてのCD107aの特定とその機能)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 現在、化学療法は様々な癌種において重要な治療戦略の一つとして臨床で活用されている。化学療法薬は活性酸素種(Reactive oxygen species: ROS)を細胞内で産生させることで、酸化ストレスを誘導し、癌細胞を死に導くことが知られている。一方で、化学療法に耐性を示す癌幹細胞(cancer stem cell: CSC)はROSを低値に抑える独自のシステムを有しており、故に、癌幹細胞は高い抗癌剤抵抗性を示し、癌の再発に直結することが知られている。このように、ROSの調節機構は抗癌剤耐性獲得の重要なシステムであるが、低ROS活性細胞を分離・同定するマーカーの報告はない。そこで、今回われわれは、大腸癌において低ROS活性を示す表面抗原マーカーの同定とその機能を解析することを目的とした研究を行った。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 242種類の表面抗原マーカーを搭載した網羅的抗体アレイを用いてROSの発現と相関する細胞表面マーカーを網羅的に検索した。本解析により、3種類の大腸癌細胞株(HT29, HCT116, SW480)に共通して、低ROS活性細胞で特徴的に発現が亢進している細胞表面マーカーとしてCD107aを同定した。CD107aは他の大腸癌細胞株及び臨床検体でも低ROS活性細胞に発現していることがフローサイトメトリーにて確認された。大腸癌細胞株HT29において大腸癌化学療法のキードラッグであるL-OHP, 5-FU, SN38を投与すると低ROS活性を示す細胞の割合が増加し、中でも特に、CD107a陽性かつ低ROS活性細胞(CD107a+/ROS-)の割合が増加することが確認された。55例のパラフィン埋没臨床検体を用いて免疫染色を行いCD107aの発現を確認したところ、中分化腺癌に含まれる未分化細胞クラスターと考えられる細胞集団や、癌の先進部、さらには術前抗癌剤投与症例でCD107aの発現が亢進していることが見出された。大腸癌細胞株CaCO2においてsiRNAを用いてCD107aの抑制試験を行ったところCD107aの発現が抑制された細胞ではROS活性が上昇することが示された。またCD107aの発現を抑制した細胞にL-OHP(1 μ M)を暴露させたところ、非抑制群(negative siRNA処理群)と比較して、抑制を行なった細胞ではcell viabilityが低下し(非抑制群: 66.16 $\pm$ 1.69%, CD107a抑制群: 33.07 $\pm$ 0.66%)、CD107aを抑制することで化学療法の感受性が改善することが示された。最後にCD107aの発現と細胞の未分化性との関連を調べるために、分化誘導実験をおこなった。CaCO2細胞に対して分化誘導剤であるNaBT(sodium butyrate) 5 μ Mを暴露させ分化を誘導した後、フローサイトメトリーにてCD107aの発現を解析すると、分化誘導を行なった群ではCD107aの発現が低下することが示された(control群: 76.6% NaBT群: 25.7%)。さらにHT29及びHCT116を用いて血清を添加していない培地でsphereを作成したのちに、血清添加・接着培養条件に移行させることで細胞分化を誘導し、経時的なCD107aの発現の変化を解析した。細胞の分化は大腸癌分化マーカーであるCK20を用いて蛍光染色にて評価を行なった。大腸癌spheroidではCD107aが強く発現しており、その発現は分化誘導とともに消失し、分化マーカーであるCK20の発現が増強することが確認され、CD107a発現細胞が未分化性を有していることが示唆された。	
〔総 括(Conclusion)〕 本研究では低ROS活性細胞に特異的に発現するCD107aを同定し、CD107aの発現が化学療法抵抗性と細胞の未分化性と関連することを明らかにした。CD107aは近年注目されているリソソーム・オートファジーの重要な構成要素の一つであり、オートファジーが化学療法抵抗性と密接に関連していることから、CD107aがオートリソソーム活性により細胞内ROSを制御していると考えられた。今後、CD107aとオートファジーの関連についてさらに研究をすすめることで癌の化学療法抵抗性のメカニズム解明につなげたいと考えている。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 北原知洋			
論文審査担当者	(職) 氏 名		
	主 査	大阪大学教授	森 正 樹
	副 査	大阪大学教授	野々村 祝夫
	副 査	大阪大学教授	小川 和 斎
論文審査の結果の要旨 多くの抗癌剤において細胞内の活性酸素種 (Reactive oxygen species: ROS) の上昇により抗腫瘍効果を発揮するが、癌幹細胞ではROSが低く抑えられており抗癌剤抵抗性を示す。細胞内ROS活性を示すマーカーの特定は抗癌剤抵抗性の解明と打破に重要であると考えられるが、未だその報告はない。 著者らは大腸癌細胞にて抗体アレイを用い低ROS活性マーカーとしてCD107aを特定した。また抗癌剤感受性試験やCD107aの発現抑制を行いCD107a陽性細胞が抗癌剤抵抗性を示すことを証明した。さらに免疫染色、分化誘導実験にてCD107aと未分化性の関連を見出した。これは低ROS活性細胞のマーカーを特定した初の報告である。本研究が発展すれば抗癌剤抵抗性の改善と癌幹細胞を含む治療抵抗性大腸癌細胞の包括的な標的化の可能性があり、癌治療に多大な貢献をすると期待できる。以上より、主筆頭著者の学位に値するものと認める。			