The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	CRISPR/Cas9-mediated gene knockout of NANOG and NANOGP8 decreases the malignant potential of prostate cancer cells
Author(s)	川村, 憲彦
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61578
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	川村　憲彦
論文題名 Title	CRISPR/Cas9-mediated gene knockout of NANOG and NANOGP8 decreases the malignant potential of prostate cancer cells （NANOGとNANOGP8のノックアウトは、前立腺癌の悪性度を低下させる）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

近年、前立腺癌において、ES細胞の未分化能維持に重要な転写因子NANOGの発現が報告されており、その悪性度とNANOG発現量の相関が報告されている。しかし、NANOGには、NANOGP8というNANOGと非常に相同性の高いタンパク質をコードした偽遺伝子が存在し、癌ではNANOGP8がNANOGタンパク質発現の中心を担い、癌幹細胞特性の付与に関与していると報告されているが、両遺伝子の塩基配列の類似性のため、癌における両遺伝子の機能については、不明な点が多い。今回我々は、前立腺癌におけるNANOGとNANOGP8の機能解析を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まず、CRISPR/Cas9による遺伝子編集技術を用いて、前立腺癌細胞株DU145からNANOG欠損株およびNANOGP8欠損株を作製し、各欠損株と親株の、NANOGタンパクの発現をWestern blottingにて確認したところ、各欠損株においてNANOGタンパクの発現は同程度に低下していることから、NANOGおよびNANOGP8いずれもがNANOGタンパクの発現に関与していることが明らかになった。続いて、NANOG欠損株・NANOGP8欠損株と親株の、自己複製能をColony formation assayにて、幹細胞特性をSphere forming assayにて、遊走能をWound healing assayにて、薬剤耐性能をドセタキセル投与後のMTS assayにて、腫瘍形成能を免疫不全マウスへ各細胞株の移植を行うことで、評価した。結果、NANOG欠損株・NANOGP8欠損株では親株に比べ、自己複製能・幹細胞特性・遊走能・薬剤耐性能・腫瘍形成能が低下していた。また、NANOG欠損株・NANOGP8欠損株では親株に比べ、上皮間葉移行のマーカーとなるE-cadherinの発現が上昇し、E-cadherinを抑制性に制御する転写因子であるSnailの発現は低下していた。また、NANOG・NANOGP8欠損株に、各々NANOG・NANOGP8遺伝子を再度発現させることによって、これらの表現型の回復を認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

以上の結果から、前立腺癌細胞においてNANOG・NANOGP8は、ともに癌の悪性度に関与している可能性が示唆された。また、NANOG・NANOGP8が前立腺癌の治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）川村　憲彦

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	野々村 祝夫
	副　査	大阪大学教授	森井 英一
	副　査	大阪大学教授	木村 正

論文審査の結果の要旨

＜研究目的の評価＞

本研究は、前立腺癌における転写因子NANOGとその偽遺伝子であるNANOGP8の機能を個別に評価したものであり、目的は十分に妥当である。

＜研究手法に対する評価＞

最新の遺伝子編集技術を用いて、相同性の非常に高い上記遺伝子を前立腺癌細胞株から個別に欠失させることで、表現型に対する影響を評価しており、また変化が見られた表現型に対する回復実験も行っており、研究手法として価値が高いと考えられる。

＜結果・考察に対する評価＞

上記細胞株とその親株を用いて、前立腺癌の自己複製能・癌幹細胞特性・遊走能・薬剤耐性能・腫瘍形成能を評価し、NANOGとNANOGP8の前立腺癌に対する役割を明らかにし、またそのメカニズムの一端を明らかにしている。これらの結果は、NANOGタンパクを発現している癌細胞に対する治療標的としての可能性を示唆するものであった。

以上のように、本論文は、医学研究に貢献すると考えられ、学位の授与に値すると考えられる。