The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Elevated expression of Tie1 is accompanied by acquisition of cancer stemness properties in colorectal cancer
Author(s)	鳥形, 未来
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67129
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　　鳥形　未来

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	島倉仲幸
	副　査	大阪大学教授	原英二
	副　査	大阪大学教授	岡田雅人

論文審査の結果の要旨

これまで血管内皮細胞に発現し、血管構造の安定化に寄与すると考えられてきた受容体型チロシンキナーゼTie1が、近年、上皮性の腫瘍で発現が亢進していることが明らかとなった。よって本論文は、がん細胞におけるTie1の機能解析と、Tie1が新規がん治療の標的分子となりうるかを検討し得た結果をまとめた論文である。

様々ながん細胞種をマウス皮下に移植し、免疫組織化学染色、フローサイトメトリー解析により各がん細胞におけるTie1陽性細胞の有無と細胞種を検討した結果、一部の大腸がんにおいてTie1の発現を確認し、そのTie1陽性細胞はがん細胞であることを明らかにした。また、Tie1強制発現細胞株での腫瘍の増殖スピードを検討した結果、in vivoでの高い増殖性も見出した。これは機能詳細が解明されていないTie1の興味深い解析結果である。

in vitroでTie1の発現が見られるのかを、様々な条件により検討し、その結果、二次元培養条件下では、Tie1がその発現を維持できないことを見出し、三次元培養であるsphere形成培養にてTie1陽性細胞が検出されることを明らかにした。これは、Tie1陽性細胞と幹細胞との関係を示唆する、今後の研究に繋がる結果である。

マウスから回収した腫瘍からTie1陽性及び陰性癌細胞を回収し、大腸がん幹細胞表面マーカーLgr5の発現を確認した結果、Tie1陽性癌細胞でLgr5の発現が亢進していることを明らかにした。また、抗がん剤投与後に残存する、悪性度の高い腫瘍でのTie1の発現を検討した結果、抗がん剤を投与したがん細胞で、Tie1の発現が顕著に増加することも明らかにしている。さらに、トランスクリプトーム解析の結果でも、Tie1をノックダウンした時に発現上昇する遺伝子が、二次元培養している時に発現する遺伝子と相関することも見出した。

以上、本論文は、Tie1の発現パターンを解明し、腫瘍における生理学的機能についての洞察を得るために腫瘍移植マウスモデルを用いて解析を行い、Tie1の発現とがんの悪性化が相関することを示唆する結果を得た論文である。本論文により、がん幹細胞におけるTie1の機能についての新たな知見を得ることができ、今後の研究につながるものと期待できる。よって本論文が、大阪大学博士（医学）の学位授与に値する論文であると判断する。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	鳥形　未来
論文題名 Title	Elevated expression of Tie1 is accompanied by acquisition of cancer stemness properties in colorectal cancer （大腸がんにおけるTie1の発現上昇はがん幹細胞性の獲得に付随する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Tie受容体は、Tie1とTie2から構成され、互いに高い相同性を有している。Tie2 は血管の安定性や造血幹細胞の幹細胞性に寄与する一方で、Tie1はリガンドが同定されておらず、詳細な機能も不明である。しかし近年、血管内皮細胞や造血幹細胞の細胞膜上に特異的に発現するTie1が、悪性黒色腫癌幹細胞において高発現していることが明らかになった。また、胃がん組織にもTie1が発現し、Tie1発現と術後の5年生存率が逆相関することも報告されており、がん細胞におけるTie1の発現は、がん細胞の増殖や悪性度に寄与することが示唆される。

よってTie1の機能を理解し、これを制御することで、がん細胞の増殖あるいはがんの悪性化を抑制できる可能性がある考え、本研究では、がん細胞におけるTie1の機能解析を行い、Tie1が新規がん治療の標的分子となりうるかを検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々はこれまでに各培養がん細胞株の通常培養下では、Tie1の発現が殆ど検出されないことを確認したため、がん幹細胞のような特殊な状態で発現すると考えた。よって以下のような実験を行い、それぞれの結果を得た。

① 様々ながん細胞種をマウス皮下に移植し、免疫組織化学染色、フローサイトメトリー解析によりTie1陽性細胞の有無を調べた。また、確認されたTie1陽性細胞の細胞種を調べるために免疫組織化学染色を行った。
　結果：マウス皮下移植モデルから回収した腫瘍の解析の結果、一部の大腸がんにおいてTie1の発現が確認された。また、そのTie1陽性細胞はがん細胞であることが分かった。

② Tie1を強制発現させた細胞株を樹立しマウスに移植後、腫瘍の増殖スピードを検討した。
　結果：コントロールに比べ、Tie1を強制発現させた細胞株を移植したマウスで顕著に増殖が見られた。

③ 通常培養下ではTie1の発現は確認出来なかったため、幹細胞性を有する細胞を培養することのできるsphere formation assayを行い、Tie1の発現を調べた。
　結果：sphereを形成させた細胞で、Tie1の発現が確認された。

④ マウス皮下移植モデルから回収した腫瘍からTie1陽性癌細胞とTie1陰性癌細胞をフローサイトメトリーにより回収し、定量的PCRにより大腸がん幹細胞表面マーカーLgr5の発現をみた
　結果：Tie1陽性癌細胞でLgr5の発現が顕著に高かった。

⑤ 腫瘍を移植後、抗がん剤投与を行い、腫瘍内のTie1発現を定量的PCRで確認した。
　結果：コントロールに比べて抗がん剤投与した腫瘍でTie1が3倍以上発現していた。

〔総　括(Conclusion)〕

最近の研究により、腫瘍の進行とTie1の発現には相関があるといわれている。よってこの研究では、Tie1の発現パターンを解明し、腫瘍における生理学的機能についての洞察を得るために腫瘍移植マウスモデルを用いて解析を行った。その結果、我々は、大腸がんでTie1が発現していること、更に大腸がんの中でもわずかな集団の腫瘍細胞のみがTie1タンパク質を発現し、その発現は通常の細胞培養条件下で維持されず、幹細胞性を有する細胞を培養することのできるsphere形成でのみ維持されることを示した。またTie陽性細胞は大腸がん幹細胞マーカーであるLgr5を高発現していたことも分かった。さらに、抗がん剤への曝露によるがん幹特性の増強により、腫瘍組織におけるTie1発現の増加も確認出来た。また腫瘍におけるTie1発現の増強はヒト臨床サンプルにおいても確認されている。よって我々は、これら知見により、がん幹細胞におけるTie1の機能について明らかに出来た。