The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Sox2 is associated with cancer stem-like properties in colorectal cancer
Author(s)	武田, 昂樹
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72532
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

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 武田 昂樹

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	土岐祐一郎
	副　査	大阪大学教授	野口眞三郎
	副　査	大阪大学教授	吉田 英一

論文審査の結果の要旨

癌幹細胞は、化学療法や放射線療法に耐性を持ち、癌の再発に関与すると考えられている。本研究では、他癌で近年、癌幹細胞性に関連すると報告されるSox2遺伝子の大腸癌幹細胞における役割を明らかにすることを目的とした。大腸癌患者130例の切除検体を用いて、Sox2発現の検討を行った。その結果、Sox2高発現群は低発現群に比べてRFSの有意に不良であった。また、多変量解析では、Sox2遺伝子発現は、RFSの独立したリスク因子であった。次にSox2発現細胞を可視化するシステムを用いて検討を行い、大腸癌細胞株において Sox2陽性細胞は、増殖能が低く、化学療法抵抗性が高く、幹細胞マーカーが高く、造腫瘍性が高く、非対称性分裂を引き起こすなどの癌幹細胞の特徴を示すことがわかった。本結果から、Sox2遺伝子が大腸癌の癌幹細胞性質に関与する可能性が示唆された。本論文は学位の授与に値すると考えられる。（393字）

[Format-P02]

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	武田　昂樹
論文題名 Title	Sox2 is associated with cancer stem-like properties in colorectal cancer （大腸癌においてSox2遺伝子は癌幹細胞性に関連する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

大腸癌は最も頻度の高い癌の1つであり、臓器別の癌死では世界第4位である。過去10年間に手術と化学療法が大きな進歩を遂げたが、5年生存率は50-65%にとどまっている。癌幹細胞（Cancer stem cell: CSC）は化学療法や放射線療法に耐性を持ち、癌の再発に関与すると考えられている。Sox2遺伝子は、SRY関連HMGボックス（SOX）ファミリーのメンバーであり、転写活性化ドメインとDNA結合能を有するHMGドメインからなる転写因子である。Sox2は、ES細胞やiPS細胞の多分化能における未分化状態の維持に関与しており、他の相乗的因子と組み合わさることで組織のホメオスタシスや再生に影響をもたらすと報告されている。近年、大腸癌を含む様々な癌種において、Sox2遺伝子の発現高値が予後不良と関連すると報告されている。一方、Sox2陽性の皮膚扁平上皮癌細胞や膀胱癌細胞は、癌幹細胞マーカーCD133、CD44v6などを高発現し、Sox2発現が低下すると腫瘍退縮するなど、これらの癌ではSox2遺伝子が癌幹細胞の動態に関わる重要な分子の1つである可能性が指摘されている。しかし、Sox2遺伝子と大腸癌の癌幹細胞との関連についてはほとんど報告がなく、本研究では、大腸癌幹細胞におけるSox2遺伝子の役割を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

2003年から2015年に大阪大学医学部附属病院で手術を受けた大腸癌患者130例（Stage I/II/III/IV:17/38/51/24例）の切除検体を用いて、qRT-PCR法によってSox2 mRNA発現を測定した。中央値で高発現群（n=65）と低発現群（n=65）の2群に分けて検討を行った結果、性別、腫瘍局在、病理組織学的因子などの患者背景においては両群間で有意差を認めなかった。2群の無再発生存期間（Relapse Free Survival：RFS）を検討したところ、Sox2 mRNA高発現群は低発現群に比べてRFSの有意な短縮がみられた（P = 0.045、追跡期間中央値60.0ヶ月）。多変量解析では、Sox2遺伝子発現（HR:2.529, 95%CI:1.148-5.973, P= 0.021）は、T4浸潤（HR:3.466, 95%CI:1.467-9.192, P= 0.004）と共にRFSの独立したリスク因子であった。

次にSox2遺伝子の転写活性の高い大腸癌細胞を視覚的に捉えるために、赤色蛍光を発するDsRed遺伝子をSox2プロモーターの下流に挿入したレンチウイルスベクターを構築し、大腸癌細胞株HCT116、HT29に感染させてSox2 mRNAを強発現する細胞を可視化させることに成功した。それぞれの大腸癌細胞株において DsRed+細胞の割合をFACSで調べたところ それぞれ2.5%、0.5%であり、Sox2 mRNAを強発現する細胞は少数であることが分かった。qRT-PCR法により、DsRed+細胞は DsRed-細胞よりもSox2 mRNAは有意に高く、他の未分化マーカーであるOct-4、Nanog mRNA発現の発現も亢進していた。更にDsRed+細胞では、癌幹細胞マーカーである Bmi-1、CD44v9、および Klf-5も有意に高発現していた。癌幹細胞の代表的な特徴である非対称な細胞分裂様式を示すかどうかを調べるために、DsRed+細胞の分裂過程を蛍光顕微鏡でリアルタイムに追跡して観察すると、DsRed+細胞の約8割の細胞で非対称分裂を認めた。In vitro実験ではDsRed+細胞は DsRed-細胞と比べて、増殖能の低下、および、5-FUおよびオキサリプラチンに対する治療抵抗性が示された。一方、ヌードマウスを用いてin vivo 腫瘍形成能を評価する実験では、in vitro実験とは逆に、DsRed+のHCT116細胞はDsRed-細胞よりも、腫瘍形成効率が高く、かつ有意に大きな腫瘍を形成した。

〔総　括(Conclusion)〕

臨床サンプルを用いた検討では、Sox2を高発現する大腸癌患者が再発を来しやすいことが明らかとなった。Sox2遺伝子の転写活性の高い少数の大腸癌細胞は、未分化マーカーのみならず癌幹細胞に関連した遺伝子マーカーを高発現し、非対称性の細胞分裂様式を示した。抗癌剤耐性や、マウスでの造腫瘍性の亢進も確認でき、Sox2遺伝子が大腸癌の癌幹細胞性質に関与する可能性が示唆された。（1862文字）