



Title	Long noncoding RNA 01534 maintains cancer stemness by downregulating endoplasmic reticulum stress response in colorectal cancer
Author(s)	市原, もも子
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/98740">https://hdl.handle.net/11094/98740</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</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  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	市原 もも子
論文題名 Title	Long noncoding RNA 01534 maintains cancer stemness by downregulating endoplasmic reticulum stress response in colorectal cancer (Long noncoding RNA 01534は大腸癌において小胞体ストレス応答を抑制することで癌幹細胞性を維持する)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 大腸癌の罹患率は近年増加しており、世界で最も一般的な消化器癌の一つである。手術、放射線療法、化学療法、分子標的治療などの治療戦略の進歩にもかかわらず、5年生存率は依然として65%未満である。近年、ロングノンコーディングRNA (LncRNA) が様々な癌腫において、発癌や癌の進行及び転移に関係しているとして注目されているが、そのメカニズムについては未だ不明な部分が多い。また大腸癌では癌幹細胞性と小胞体 (ER) ストレス応答が逆調節されていることが研究で示されているが、そのメカニズムは完全には解明されていない。ERストレス応答は、栄養や脂質の欠乏、低酸素、細胞外pHの酸性化など多くのストレスに対する適応であるが、癌におけるその役割は未だ殆ど明らかではない。本研究では、大腸癌におけるLncRNA 01534(LINC01534)の役割を明らかにするため大腸癌患者の予後における臨床的意義を評価するとともに、LINC01534が癌幹細胞性とERストレス応答の調節因子である可能性について検討した。	
〔方法(Methods)/成績 (Results)〕 プロテアソーム活性が低下した腫瘍細胞は、癌幹細胞様性質を示すことが報告されている。我々は、低プロテアソーム活性細胞を検出するin vitro可視化システムを活用し、RNAシーケンシングによりLINC01534が低プロテアソーム活性細胞で特異的に過剰発現していることを発見した。次に、大腸癌細胞株 (HCT116、RKO) を用いてProliferation Assay、Invasion Assay、Cell cycle Assay、Apoptosis Assay、Western Blotting、qRT-PCR、Sphere Formation Assay、Chemosensitivity Assay、RNA sequencingを行った。LINC01534の阻害により、細胞増殖能の低下、浸潤能の低下、cdc25B・cdc25C・cdc2を含むG2-M細胞周期制御因子の低下に伴うG2-M arrestの増加、アポトーシスの増加が促進された。更に、Gene Ontology解析からLINC01534の阻害はERストレス応答に関連するERストレスセンサー (PERK・IRE1α・ATF6α)、特にPERK pathwayに関する因子(BiP・PERK・ATF4・CHOP)の発現が上昇することが示された。そこでPERK pathway活性化の特徴であるリン酸化eIF2αを調べるために、大腸癌細胞株 (HCT116、RKO) を用いてWestern Blotting を行ったところPERK、HSPA5、ATF4、リン酸化eIF2αを含むPERK/eIF2α シグナル伝達経路関連分子の活性化を認めた。この傾向はグルコースもしくはグルタミン欠乏下での培養においてより顕著に認められた。LINC01534が阻害されたHCT116ではDCLK1・LGR5・CD133・BMI・CD44v9などの癌幹細胞マーカーの低下やCDX2といった分化マーカーの増加を認めた。ERストレス応答の誘導剤を用いたHCT116においても同様に癌幹細胞マーカーが低下し分化マーカーが上昇しており、ERストレスにより癌幹細胞性を抑制することが示された。化学療法の感受性に対しても、LINC01534の阻害により5-FUに対する感受性が有意に高くなっていることが分かった。つまりLINC01534の阻害は、PERK/eIF2αシグナル伝達経路を介したERストレス応答を活性化することで、腫瘍形成能や薬剤感受性といった癌幹細胞性を抑制していることが明らかとなった。The Cancer Genome Atlasのデータベースにおいて、LINC01534高発現群は低発現群と比較して有意に予後不良であった。大腸癌手術187例でLINC01534 の発現を qRT-PCR および in situ hybridization により評価した。LINC01534は腫瘍細胞に局限して発現しており、またLINC01534高発現群は遠隔転移と有意に相関を認め低発現群と比較して有意に予後不良であった。	
〔総 括(Conclusion)〕 LINC01534が大腸癌の新規予後因子であることを初めて証明した。LINC01534は大腸癌細胞の増殖と浸潤を促進し、癌幹細胞性の維持とERストレス応答においての調節因子であった。大腸癌治療において、LINC01534を標的とすることは潜在的な治療選択肢であり、大腸癌患者の予後を改善する可能性があると考えられた。本研究は、大腸癌におけるLINC01534の発現、機能、臨床的関連性に関して重要な側面を明らかにしたと考える。	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 市原 もも子													
論文審査担当者	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>(職)</th> <th>氏 名</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>主 査</td> <td>大阪大学教授</td> <td>江口 英利</td> </tr> <tr> <td>副 査</td> <td>大阪大学教授</td> <td>谷内田 真一</td> </tr> <tr> <td>副 査</td> <td>大阪大学教授</td> <td>奥山 宏臣</td> </tr> </tbody> </table>		(職)	氏 名	主 査	大阪大学教授	江口 英利	副 査	大阪大学教授	谷内田 真一	副 査	大阪大学教授	奥山 宏臣
		(職)	氏 名										
	主 査	大阪大学教授	江口 英利										
副 査	大阪大学教授	谷内田 真一											
副 査	大阪大学教授	奥山 宏臣											
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>本研究では、大腸癌におけるlong noncoding RNA 01534 (LINC01534)の役割を明らかにするため、大腸癌組織での発現検討と、癌幹細胞性と小胞体(ER)ストレス応答に着目した細胞機能実験を実施した。LINC01534は癌幹細胞様性質を示す低プロテアソーム活性細胞で特異的に過剰発現し、The Cancer Genome Atlasのデータベースや当科にて大腸癌手術を施行した187例においても、LINC01534高発現群は低発現群と比較し有意に予後不良であった。In situ hybridizationによってLINC01534は正常大腸上皮細胞に比して腫瘍細胞に有意に多く発現していた。In vitro実験ではLINC01534の阻害により、細胞増殖能や浸潤能の低下、G2-M arrestやアポトーシスの増加がみられ、PERK/cIF2<math>\alpha</math>シグナル伝達経路を介したERストレス応答が活性化される一方で、sphere形成能や薬剤感受性といった癌幹細胞性質が抑制されることが分かった。本研究によって、これまで癌での報告がなかったLINC01534が癌幹細胞性とERストレス応答の調整因子として重要な役割を担うこと、大腸癌の予後不良因子となることが初めて明らかとなり、今後の大腸癌治療や予後予測における新たなアプローチを提供したことから、学位の授与に値すると考えられる。</p>													