

論 文 内 容 要 旨

題目 Cyclopamine Decreased the Expression of Sonic Hedgehog and its Downstream Genes in Colon Cancer Stem Cells

(Cyclopamine は大腸癌癌幹細胞のソニック・ヘッジホッグとその下流遺伝子発現を抑制する)

著者 BAT-ERDENE BATSAIKHAN, KOZO YOSHIKAWA, NOBUHIRO KURITA, TAKASHI IWATA, CHIE TAKASU, HIDEYA KASHIHARA and MITSUO SHIMADA

平成26年11月発行 Anticancer Research 第34巻 第11号  
6339 ページから 6344 ページに発表済

内容要旨

癌幹細胞(cancer stem cell: CSC)は化学療法抵抗性であり、癌の再発の主原因の一つと考えられている。sonic hedgehog(Shh)経路は腫瘍増殖に重要な役割を果たし、CSC との関連が報告されている。一方、自己複製能を持たない non-CSC は epithelial mesenchymal transition(EMT)により CSC に転化するとされている。今回、我々は Shh と EMT 誘導、CSC 転化の関連について検討した。

大腸癌細胞 HCT-116 を無血清、浮遊培養により sphere を形成させ、cancer sphere、cell line における stemness genes、surface markers、Shh pathway、tight junction genes、EMT related genes 発現を RT-PCR で測定、sphere と cell line での発現を比較検討した。次に、Shh 経路の抑制因子である cyclopamine を用いて sphere を処理し、幹細胞マーカー、Shh 経路下流因子と EMT に関する遺伝子の発現変化を RT-PCR を用いて評価した。

得られた結果は以下のごとくである。

1. Stemness genes である Oct4 と Nanog が sphere で有意に高発現していた。
2. Surface markers である CD44 と EpCAM も sphere で有意に高発現していた。
3. Shh 経路である Shh、Ptch1、Gli1 が sphere で有意に高発現していた。
4. Tight junction である Occludin と Claudin-4 が sphere で有意に高発現していた。
5. EMT related gene である Vimentin が CSC で有意に高発現していた。
6. Cyclopamine 添加により sphere における Nanog、Oct-4、CD-44 発現が有意に抑制された。

様式(8)

7. Occludin と Claudin-4 は有意に抑制され、E-Cadherin と Vimentin はそれぞれ用量依存性に有意に増強、抑制された。

以上より Shh は CSC 転化における EMT 誘導に重要な役割を果たしている可能性があり、Shh 阻害は CSC に対する新たな治療戦略の一つになる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1238 号	氏名	Batsaikhan Bat-Erdene
審査委員	主査 丹黒 章 副査 高山 哲治 副査 井本 逸勢		

題目 Cyclopamine Decreased the Expression of Sonic Hedgehog and its Downstream Genes in Colon Cancer Stem Cells  
(Cyclopamine は大腸癌癌幹細胞のソニック・ヘッジホッグとその下流遺伝子発現を抑制する)

著者 BAT-ERDENE BATSAIKHAN, KOZO YOSHIKAWA, NOBUHIRO KURITA, TAKASHI IWATA, CHIE TAKASU, HIDEYA KASHIHARA and MITSUO SHIMADA  
平成26年11月発行 Anticancer Research 第34巻 第11号  
6339ページから6344ページに発表済  
(主任教授 島田 光生)

要旨 癌幹細胞(cancer stem cell: CSC)は化学療法抵抗性であり、癌の再発の主原因の一つと考えられている。sonic hedgehog (Shh)経路は腫瘍増殖に重要な役割を果たし、CSC や tight junction (TJ)との関連が報告されている。一方、自己複製能を持たない non-CSC は epithelial mesenchymal transition (EMT)により CSC に転化する可能性が指摘されている。

そこで申請者らは、CSC の制御における Shh の役割を明らかにする目的で、大腸癌細胞 HCT-116 を無血清、浮遊培養により cancer sphere を形成させ、幹細胞マーカー、Shh pathway、TJ、EMT 関連遺伝子の発現を RT-PCR で測定して cell line での発現と比較するとともに、Shh 経路の特異的阻害剤である cyclopamine を用いて cancer sphere を処理し、それら幹細胞マーカー、Shh pathway、TJ、EMT 関連遺伝子の発現変化を検討した。

得られた結果は以下のごとくである。

- 1) Cancer sphere では、幹細胞マーカー遺伝子である Oct4、Nanog、CD44、EpCAM が cell line に比し高発現していた。
- 2) Shh pathway の Shh、Ptch1、Gli1 も高発現していた。
- 3) TJ 遺伝子の Occludin、Claudin-4 もまた高発現していた。
- 4) EMT 関連遺伝子の vimentin が cell line に比し高発現するとともに、E-cadherin 発現は減弱していた。
- 5) Cyclopamine 添加により、幹細胞マーカーの Nanog、Oct-4、CD-44 発現が有意に抑制されたが、EpCAM は抑制されなかった。TJ 遺伝子の Occludin、Claudin-4 も有意に抑制され、EMT 関連遺伝子の vimentin は用量依存性に抑制され、E-cadherin は発現回復した。

以上より、Shh は癌細胞の CSC 転化ならびに維持に重要な役割を果たしており、その特異的阻害剤により CSC を標的にした治療の可能性が明らかとなった。

本研究は、癌幹細胞形成や維持のメカニズム解明や治療法開発に寄与するものと考えられ、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。