

石本 崇胤 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

胃癌形成において CD44 は PGE₂ シグナルによる胃幹細胞様細胞の増殖に機能的な役割を果たしている

(CD44 plays functional role for stem-like cell expansion triggered by prostaglandin E₂ signaling during gastric carcinogenesis)

細胞外マトリックスに対する接着分子 CD44 は、リンパ球のホーミングや活性化、細胞運動等の生理的過程のみならず、腫瘍細胞の浸潤や転移に関わることが知られている。さらに、いくつかの腫瘍における癌幹細胞マーカーのひとつとして注目されている。このことから、CD44 は細胞接着や運動だけでなく、癌の発生およびその維持に関わる可能性が考えられるが、不明な点が多い。本論文では、胃癌発症モデルマウスを用いて、腫瘍形成における CD44 の機能的な役割を明らかにすることを目的とした。胃癌形成における CD44 発現の意義および幹細胞様細胞などを検討するために、胃上皮に Wnt1、COX2 および mPGES1 を高発現することで高分化型腺癌を発症する K19-Wnt1/C2mE マウスを用いて、免疫組織化学染色法、ウエスタンブロット法、フローサイトメトリー法、遺伝子発現解析法、BrdU による細胞標識法などで解析した。さらに CD44 を欠損する CD44^{-/-} マウスと K19-Wnt1/C2mE マウスの交配による CD44^{-/-} K19-Wnt1/C2mE マウスを作製し、CD44 発現の有無による胃癌形成および腫瘍細胞の特徴の相違等について比較解析を行った。その結果、野生型マウスの正常な胃において、腺扁平上皮境界部に BrdU を長期間保持し CD44 を発現する幹細胞様の上皮細胞から成る腺管が存在していた。この境界部にある幹細胞様細胞は PGE₂ を介した経路で増加し、さらに Wnt 経路の活性化の共在によって、その増加は著明に促進された。フローサイトメーターを用いて、K19-Wnt1/C2mE マウスから CD44 陽性または CD44 陰性の腫瘍細胞を分離し、マイクロアレイ解析および定量的 RT-PCR 解析を行った。CD44 陽性腫瘍細胞において細胞周期と細胞分裂に関連する遺伝子群の発現増加を認め、他方、CD44 陰性腫瘍細胞では分化やアポトーシスに関連する遺伝子群の発現が増加していた。また、癌幹細胞マーカーのひとつである CD133 は CD44 陽性腫瘍細胞で発現が高く、胃の分化マーカーである MUC5AC は CD44 陰性腫瘍細胞で高い発現を認めた。タンパク質レベルでも、CD44 陽性腫瘍細胞は CD133 陽性の未分化な腫瘍細胞を多く含んでいた。さらに、免疫組織化学染色にて、CD44 陽性腫瘍細胞では酸化ストレス経路 p38MAPK の活性化がなく、他方、CD44^{-/-} マウスの解析で、p38MAPK の活性化と p21CIP1/WAF1 の発現上昇、未分化な腫瘍細胞の増殖抑制が見出された。以上より、CD44 が胃癌形成と酸化ストレス経路において役割を果たすことが示唆された。

審査において、①CD44 の発現調節機構、スプライスバリエーションの発現と機能、②CD44 の癌幹細胞マーカーとしての位置づけ、③CD44 ノックアウトマウスの表現型、④ヒトとマウスの腺扁平上皮境界部の特徴、⑤K19 ケラチンの発現と K19 遺伝子プロモーター活性、⑥ヒトの胃と胃癌における CD44 の発現、⑦ピロリ菌感染と PGE₂ の関連性、⑧CD44 陽性と p38MAPK の活性抑制に関する考察、⑨CD44 の胃癌発生における意義と治療標的性、などについて質問が出され、発表者からは適切な答えと討論がなされた。

本論文は、K19-Wnt1/C2mE マウスにおいて、CD44 は Wnt/PGE₂ 経路を介した胃幹細胞様細胞の増殖に関わることで、胃癌形成に関わることを明らかにしたものであり、発癌における CD44 の役割、CD44 と酸化ストレス経路の関連性等に関する理解に貢献するものと高く評価する。

審査結果

学位申請者名：石本 崇胤

専攻分野：消化器外科学

学位論文題名：

胃癌形成において CD44 は PGE₂ シグナルによる胃幹細胞様細胞の増殖に機能的な役割を果たしている

(CD44 plays functional role for stem-like cell expansion triggered by prostaglandin E₂ signaling during gastric carcinogenesis)

指導：馬場 秀夫 教授

判定結果：

Ⓢ

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年2月9日

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 光善

審査委員 消化器内科学担当教授

石本 崇胤

審査委員 組織構築学担当教授

永瀬 昭良

審査委員 分子生理学担当教授

富澤 一仁