

京都大学	博士 (医学)	氏名	山賀 雄一
論文題目	Gene expression profile of Dclk1 <sup>+</sup> cells in intestinal tumors (腸腫瘍における Dclk1 陽性細胞の遺伝子発現プロファイリング)		
(論文内容の要旨)			
<p>正常組織に幹細胞が存在するように、腫瘍細胞においてもヒエラルキーがあり、腫瘍幹細胞が存在するという仮説が提唱されており、腫瘍の治療標的として注目されている。京都大学医学部消化器内科学では以前に、腸腫瘍のモデルマウスにおいて Dclk1 が正常組織の幹細胞ではなく、腫瘍幹細胞の特異的なマーカーであり、Dclk1 陽性かつ Lgr5 陽性細胞が腸腫瘍の腫瘍幹細胞であることを報告した。腫瘍幹細胞を標的とする治療を開発するためには、腫瘍幹細胞に特異的に発現しているキナーゼなどの創薬標的を同定する必要がある。そこで本研究では、マウスの正常小腸上皮と小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞において高発現している因子のプロファイリングを行った。</p> <p>まず、マウスの正常小腸上皮と小腸腫瘍において、Dclk1 陽性細胞と Dclk1 陰性細胞をフローサイトメトリーにてソーティングし、マイクロアレイにより遺伝子発現プロファイリングを行った。さらに Dclk1 陽性細胞で高発現している因子について蛍光免疫染色で検討した。その結果、正常小腸上皮の Dclk1 陽性細胞で、エイコサノイド合成経路に関わる Alox5ap が高発現していることがマイクロアレイによって示された。Dclk1 は Cox を発現する Tuft 細胞のマーカーであるという既報と合致する結果であった。さらに正常小腸上皮の Dclk1 陽性細胞では、Rac2、Camk2b、Myo1b などの微小管や細胞骨格に関わる因子や、Hck、Csk、Ptpn6 などの Src ファミリーキナーゼが高発現していることがマイクロアレイによって示された。蛍光免疫染色でこれらの因子が正常小腸上皮の Dclk1 陽性細胞に発現していることを確認した。さらに蛍光免疫染色では、リン酸化 Hck と、Src ファミリーキナーゼに属するリン酸化 Lyn も正常小腸上皮の Dclk1 陽性細胞に発現していた。小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞においては、Rac2、Camk2b や、Hck、Ptpn6 などが高発現していることがマイクロアレイで示された。蛍光免疫染色にてこれらの因子が小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞に発現していることを確認した。さらに蛍光免疫染色で、Myo1b、Csk、リン酸化 Hck、リン酸化 Lyn が小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞に発現していた。正常小腸上皮と小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞の遺伝子発現プロファイリングが類似していたため、両者を直接マイクロアレイで比較した結果、細胞周期を正に制御する Ccnd1 が小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞で高発現していた。蛍光免疫染色で Ccnd1 が小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞に発現していることを確認した。蛍光免疫染色で、細胞周期に関わる c-Jun も小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞で発現していた。Ccnd1、c-Jun はいずれも小腸腫瘍内に広く発現している。そこで、腫瘍幹細胞に特異的に発現している因子を検索するため、小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞において高発現している因子の中で、小腸腫瘍の Lgr5 陽性細胞にも発現している因子を免疫染色で検討した。その結果、小腸腫瘍においてリン酸化 Hck とリン酸化 Lyn が小腸腫瘍の Lgr5 陽性細胞にも発現していた。すなわち、リン酸化 Hck とリン酸化 Lyn とが、小腸腫瘍中の Dclk1 陽性と Lgr5 陽性細胞の双方に発現しており、これらの因子が Dclk1 陽性腫瘍幹細胞において重要な因子である可能性が示唆された。</p> <p>以上のように、本研究では、腸腫瘍における Dclk1 陽性細胞で高発現する因子を明らかにした。これらの因子が腫瘍幹細胞を標的とする治療の開発につながる可能性が</p>			

示唆される。

(論文審査の結果の要旨)

大腸癌に対する新規治療法のひとつとして癌幹細胞を標的とする治療の研究が進められている。Doublecortin like kinase 1 (Dclk1)は、腸腫瘍モデルマウスにおいて正常小腸では分化した細胞 (tuft 細胞) を、腸腫瘍では Lgr5 とともに腫瘍幹細胞をマークする。そこで本研究では、マウス正常小腸と腸腫瘍における Dclk1 陽性細胞の遺伝子発現プロファイリングを行った。

まず正常小腸上皮と小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞をフローサイトメトリーにてソーティングし、マイクロアレイ解析を行ったところ、正常小腸上皮と小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞において Rac2 などの細胞骨格に関わる因子や、Hck などの Src ファミリーキナーゼが高発現していた。腸腫瘍幹細胞に特異的な因子を同定するため、小腸腫瘍の Dclk1 陽性細胞に発現する因子について、小腸腫瘍の Lgr5 陽性細胞における免疫染色を行ったところ、Hck および Lyn のリン酸化が亢進していた。

以上の研究は大腸癌幹細胞の特質解明に貢献し、大腸癌の新規治療標的候補同定に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成30年12月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降