

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	岡田 敏宏
論文審査担当者	主 査 谷口 俊一郎 副 査 中山 淳 ・ 菅野 祐幸
論文題目 Coexpression of EpCAM, CD44 variant isoforms and claudin-7 in anaplastic thyroid carcinoma (甲状腺未分化癌において EpCAM、CD44 variant isoforms と claudin-7 は共発現する)	
(論文の内容の要旨) <p>【はじめに】甲状腺未分化癌は極めて悪性度が高い腫瘍であるが、その高い悪性度の要因や、未分化癌が分化癌から生じてくる未分化転化の機序は、未だ解明されていない。今回我々は、様々な悪性腫瘍で悪性度との相関が認められ、癌幹細胞のマーカーの一つとも考えられている EpCAM とその関連因子である CD44 variant isoforms および claudin-7 に着目し、ALDH1 酵素活性との比較も加え解析した。</p> <p>【方法】甲状腺乳頭癌細胞株 TPC1、濾胞癌細胞株 FTC133、未分化癌細胞株の FRO、ACT-1 について、細胞表面マーカーである CD44 の standard form (CD44s) および variant isoform (CD44v3、CD44v6)、EpCAM の発現、および ALDH1 酵素活性を、FACS と蛍光免疫染色で解析した。また、これらの因子と claudin-7 の mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法で解析し、さらに、臨床甲状腺癌組織の免疫組織染色で発現を解析した。</p> <p>【結果】(1) EpCAM と CD44s、CD44v3、CD44v6 の発現の比較：EpCAM は未分化癌細胞株で高発現を認め、分化癌細胞株では発現が認められないか、極めて低い発現が認められた。CD44s は分化癌細胞株で高発現を認めたが、未分化癌細胞株ではその発現は低かった。一方、CD44 の variant isoform では、未分化癌細胞株で variant 3 および 6 の発現を認めたが、分化癌細胞株では発現を認めなかった。(2) EpCAM と CD44s の発現の比較：FACS 解析では、未分化癌細胞株では EpCAM の高発現と CD44s の低発現を認め、両者の発現には逆相関が認められた。蛍光二重染色の観察では、CD44s の発現は分化癌細胞株で高く、未分化癌細胞株では低発現を示し、一方 EpCAM の発現は、分化癌細胞株では認められず、未分化癌細胞株の CD44s が低発現の細胞でのみその発現が認められた。(3) EpCAM、claudin-7 の mRNA および蛋白の発現の比較：EpCAM およびこれと直接結合することにより Wnt シグナル伝達に関与する claudin-7 の発現を、RT-PCR 法およびウェスタンブロット法で解析した。未分化癌細胞株では、EpCAM、claudin-7 のいずれも、分化癌細胞株に比し有意な発現の増加を認めた。(4) ALDH1 酵素活性と mRNA 発現解析の比較：分化癌細胞株では ALDH1 酵素活性を有する細胞は認められず、未分化癌細胞株では、高い ALDH1 酵素活性を有する細胞を多く認めた。また、未分化癌細胞株では、ALDH1 mRNA の有意な発現増加を認めた。(5) ALDH1 酵素活性と CD44s の発現の比較：FACS 解析では、ALDH1 酵素活性と CD44s の発現には逆相関を認め、蛍光二重染色での観察では、CD44s 高発現の細胞は ALDH1 酵素活性が低く、逆に ALDH1 酵素活性が高い細胞では CD44s の発現が低いことが観察された。未分化癌細胞株では ALDH1 酵素活性は高く、CD44s は低発現を示した。(6) ALDH1 酵素活性と EpCAM の発現の比較：未分化癌細胞株では、ALDH1 酵素活性、EpCAM 発現ともに高く、ALDH1 酵素活性と EpCAM には強い正の相関が認められた。蛍光二重染色では、未分化癌細胞株にのみ ALDH1 酵素活性、EpCAM 発現共に高い細胞が認められ、ALDH1 酵素活性が高い細胞での EpCAM の共発現が観察された。(7) 甲状腺癌臨床検体の免疫染色での解析：未分化癌では、EpCAM の核での発現が分化癌より有意に多く認められ、未分化癌で CD44s の発現が低く、CD44v6 の発現が高い傾向が認められた。また、未分化癌では CD44s 低発現かつ CD44v6 高発現を示す症例が認められたが、分化癌では認められなかった。</p> <p>【考察】EpCAM、CD44 variant isoforms、claudin-7 が複合体を形成して腫瘍の悪性度や増殖を促進している可能性が他癌で報告されているが、今回の我々の解析でも、甲状腺未分化癌細胞株で、EpCAM と claudin-7 の高発現、CD44s の発現低下と variant forms の発現増加や高い ALDH1 酵素活性が認められ、臨床検体でも EpCAM や CD44v6 では同様の傾向が認められ、甲状腺未分化癌では EpCAM とその関連因子や高い ALDH1 酵素活性が、この癌の高い悪性度に関与している可能性が推測され、これらの因子が新規治療戦略開発に繋がる可能性が考えられる。</p>	