

ふりがな氏名	にいづつじりえ 西五辻 理江
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 769 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Gene expression profile of side population cells in human oral cancer cell line SCC-4 (ヒト口腔がん細胞株 SCC-4 における side population 細胞の性状解析)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 49 巻 第 2 号 平成 27 年 10 月
論文調査委員	主査 大浦 清 教授 副査 西川 泰央 教授 副査 今井 弘一 教授

論文内容要旨

薬物は ABC トランスポーターより排泄されるため、この経路の働きが亢進している細胞では、薬剤耐性を示す。本研究では、ABC トランスポーターの輸送基質である Hoechst33342 の排泄能を指標に、ヒトがん細胞株より ABC トランスポーター-ABCG2/BCRP1 を介した排泄が亢進している細胞群を単離し、その遺伝子発現を網羅的に解析した。

ヒト口腔舌がん細胞株 SCC-4 を用いた。この細胞に、Hoechst33342 5 μ M を添加し、色素排泄が亢進している Hoechst^{low} 細胞を、FACS を用いて単離し、side population (SP) 細胞とした。SP 細胞は、G0/G1 分画よりもさらに蛍光強度の低い分画に存在する一群の細胞である。一方、Hoechst^{high} 細胞は、main population (MP) 細胞とし、対照群として用いた。SP 細胞と MP 細胞から総 RNA を調製し、Affymetrix 社 GeneChip Array を用いて、SP 細胞の遺伝子発現プロファイルを作成した。発現に有意な差異のあった遺伝子を抽出し、DAVID Gene Ontology (GO) 頻度解析および KEGG Pathway 頻度解析を行い、SP 細胞における遺伝子発現の特徴を調べた。

FACS 解析により、SP 細胞は SCC-4 細胞株の全生細胞数の約 1.5% であった。ABCG2/BCRP1 の阻害薬であるレセルピン存在下で、ABCG2/BCRP1 を介した色素排泄が阻害されるため、Hoechst^{low} 分画に存在する細胞は 0.15% まで減少した。一方 MP 細胞の割合はほとんど変化がなかった。以上の結果より単離した Hoechst^{low} 分画に存在する SP 細胞が ABC トランスポーターによる排泄が亢進している細胞群であることがわかった。さらに、アレイに搭載されている、コントロールを除く 26,879 個のプローブを対象に、遺伝子発現の網羅的解析を行った。MP 細胞と比較して、SP 細胞が +10% 以上で発現した上昇群は ABCG2/BCRP1 遺伝子を含む 15.8%、-10% 以下で発現した下降群は 16.6% であった。GO

頻度解析や KEGG Pathway 頻度解析を行った結果、上昇群では炎症、細胞遊走や血管新生の term が有意に認められた ($p < 0.05$). 下降群では DNA 複製, DNA 代謝過程や, DNA 修復の term が有意に認められた ($p < 0.05$). SP 細胞において, 抗がん薬のシスプラチンやゲフィニチブなどの排泄に関わる ABC トランスポーターの ABCG2/BCRP1, ABCC2/MRP2 の発現は上昇していた. 一方, フルオロウラシルなどの抗がん薬の細胞内取り込みに関与し, その機能が抑制されると薬物耐性に働く SLC29A1/ENT1 の発現は下降していた.

本研究では, SCC-4 に ABCG2/BCRP1 を介した排泄能が亢進している SP 細胞が存在することを明らかにし, SP 細胞の単離に成功した. SCC-4 における SP 細胞の遺伝子発現プロファイルより, SP 細胞には抗がん薬耐性の可能性を特徴づける遺伝子発現が認められた.

論文審査結果要旨

本論文は, ABC トランスポーターの輸送基質である Hoechst33342 の排泄能を指標に, ヒトがん細胞株より ABC トランスポーター ABCG2/BCRP1 を介した排泄が亢進している細胞群を単離し, その遺伝子発現を網羅的に解析した.

ヒト口腔舌がん細胞株 SCC-4 を用いた. この細胞に, Hoechst33342 $5\mu\text{M}$ を添加し, 色素排泄が亢進している Hoechst^{low} 細胞を, FACS を用いて単離し, side population (SP) 細胞とした. 一方, Hoechst^{high} 細胞は, main population (MP) 細胞とし, 対照群として用いた. SP 細胞と MP 細胞から総 RNA を調製し, Affymetrix 社 GeneChip Array を用いて, SP 細胞の遺伝子発現プロファイルを作成した. 発現に有意な差異のあった遺伝子を抽出し, DAVID Gene Ontology (GO) 頻度解析および KEGG Pathway 頻度解析を行い, SP 細胞における遺伝子発現の特徴を調べた.

本論文では, SCC-4 に ABC トランスポーターの ABCG2/BCRP1 を介した排泄能が亢進している SP 細胞が存在することを明らかにし, SP 細胞の単離に成功した. SCC-4 における SP 細胞の遺伝子発現プロファイルより, SP 細胞には抗がん薬耐性の可能性を特徴づける遺伝子発現が認められた.

以上, SP 細胞の遺伝子発現が, 抗がん薬耐性の可能性を証明した点において, 本論文は, 博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した.