

氏 名 (本 籍) 加 藤 博 文 (京都府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 5 9 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Expression of Pericyte, Mesangium and Muscle Markers in Malignant Rhabdoid Tumor Cell Lines: Differentiation induction using 5-azacytidine
(悪性横紋筋様腫瘍細胞株における周皮細胞、メサンギウム細胞、筋肉系マーカーの発現-5アザシチジンを用いた分化誘導での検討)

審 査 委 員 主 査 教 授 岡 部 英 俊
副 査 教 授 工 藤 基
副 査 教 授 堀 江 稔

論文内容要旨

*整理番号	461	氏名 (よりがな)	かとう ちろふみ 加藤 博文
学位論文題目	Expression of Pericyte, Mesangium and Muscle Markers in Malignant Rhabdoid Tumor Cell Lines: Differentiation induction using 5-azacytidine (悪性横紋筋様腫瘍細胞株における周皮細胞、メサンギウム細胞、筋肉系マーカーの発現 - 5アザシチジンを用いた分化誘導での検討-)		
<p>【目的】 Malignant Rhabdoid Tumor (以下 MRT と略す)は乳幼児に好発する極めて予後不良な小児悪性固形腫瘍である。MRT の組織起源については multiphenotypic な性質を持つと考えられているが、いまだ不明な点が多い。一部に神経系形質を持つものがあることは我々のこれまでの研究でも明らかにされてきたが、筋肉系形質の発現についてはこれまでまとまった形での報告はないにもかかわらず発現はないものとされている。今回、我々は RT-PCR、免疫組織化学、Western Blotting 等の手法により Azacytidine を使用した筋肉への分化誘導を含めて、骨格筋 (MyoD, myogenin, myf-5, myf-6, acetylcholine receptor-α, -β, -γ)、平滑筋 (α-smooth muscle actin, SM-1, SM22)、および平滑筋類似細胞である pericyte (angiopoietin-1 and -2) と mesangial cell (megsin) のマーカーを用いて遺伝子発現の検索を行い、MRT が筋肉系形質および平滑筋類似細胞形質を持つか否かについての検討を行った。</p> <p>【方法】 6つの MRT 培養細胞株 (TM87-16, STM91-01, TTC549, TTC642, YAM-RTK1, TTC1240) とコントロールとして使用した横紋筋肉腫細胞株 RD、神経芽腫細胞株 IMR-32 に分化誘導剤として 10^{-6}M の 5-Azacytidine を用いて、分化誘導開始から 0 日目、2 日目、4 日目、6 日目の mRNA を抽出し、型通り RT-PCR を行った。また、myf-6, smooth muscle myosin heavy chain, angiopoietin-1, megsin については免疫染色を行い、angiopoietin-1, megsin についてはさらに Western Blotting も行い、蛋白発現を確認した。</p> <p>【結果】 Myo D と myf-5 は全ての MRT 株において検出されなかった。しかし、myogenin は MRT 株中では STM91-01, TTC549, YAM-RTK1 でわずかに検出された。また、myogenin は神経芽腫細胞株 IMR-32 でもわずかに発現を認めた。MRT 株中では STM91-01 のみで myf-6 が検出された。acetylcholine receptor subunits については、α subunit が STM91-01 においてのみ検出された。smooth muscle marker は、α-smooth muscle actin と SM22 が MRT 6 株全てにおいて検出された。SM-1 は TM87-16 にのみ検出された。また angiopoietin-1 は TM87-16, STM91-01, TTC1240 より検出され、megsin は STM91-01 において検出された。</p> <p>【考察】 MRT の 6 つの培養細胞株のいずれにおいても骨格筋系への分化の決定に重要な MyoD と myf-5 は発現しなかったことより、骨格筋への分化の可能性は無いと考えられた。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、
 2 千字程度でタイプ等で印字すること。
 2. ※印の欄には記入しないこと。

一方、平滑筋マーカーについては、TM87-16において平滑筋に特異性が高いとされるSM-1を発現しており、MRTには平滑筋形質を示すものが認められた。また、MRT株には平滑筋類似細胞であるpericyteのマーカー(angiotensin-1)が発現していたものがあり、その中でも特に腎由来であるSTM91-01についてはmesangial cellのマーカー(megsin)も同時に発現していた。STM91-01はMRT中唯一myf-6を発現していたが、これも最近、mesangial cellでは骨格筋形質を持たないにもかかわらずmyf-6が発現するとの報告があり、これと相関する結果であった。平滑筋や平滑筋類似細胞はこれまでは中胚葉起源であると考えられていたが、最近では神経外胚葉系を起源とする平滑筋、平滑筋類似細胞の報告がしばしば見られるようになった。MRTについてもこれまでの神経系形質に加え、今回平滑筋あるいは平滑筋類似細胞の形質を持つことが新たに判明したが、これらの結果はMRTが神経外胚葉起源であるとする我々のこれまでの報告を裏付けるものであると考えられた。

【結論】 検索を行ったMRT 6株全てにおいて骨格筋系の分化の決定に重要なMyoDとmyf-5が発現しておらず、MRTは骨格筋形質を持たない可能性が高いと考えられた。一方、MRTには平滑筋や平滑筋類似細胞の形質を持つものがあり、その一部にmesangial cellの形質を持つものが存在する可能性が示唆された。MRTの神経系、平滑筋系あるいは平滑筋類似細胞系の形質はMRTが広義のprimitive neuroectodermal tumorであることを裏付けるものと考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	461	氏名	加藤 博文
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>本研究は悪性横紋筋様腫瘍 (malignant rhabdoid tumor, MRT) における骨格筋形質、平滑筋形質、平滑筋類似細胞であるペリサイトやメサングウム細胞の形質発現の有無について検討をおこなったものである。</p> <p>MRT 培養細胞株 6 株に対し 10μM の 5-azacytidine を用いて分化誘導を行い、各種筋肉系マーカーの発現を RT-PCR, Western blotting, immunocytochemistry で検討した。</p> <p>その結果、次のことが明らかになった。MRT 培養細胞株においては分化誘導後も骨格筋系の形質は発現しなかった。しかし、TM87-16 株においては平滑筋の形質を有しており、また STM91-01 株においてはメサングウム細胞という平滑筋類似細胞の形質を有していた。これらの MRT の形質発現は MRT が広義の primitive neuroectodermal tumor (PNET) の範疇に属するものであることを裏付けるものであった。</p> <p>本研究は MRT における筋肉系形質の有無を広範に検討し、特に平滑筋類似細胞の形質発現をはじめて明らかにした論文であり、博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>なお本学位授与申請者は、平成 16 年 2 月 3 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。</p>			
(平成 16 年 2 月 16 日)			