Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-17

Expression of DcR3 in bone and soft tissue tumors

今堀, 正也

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2009-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲4712
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004712

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏　　名	今堀　正也
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博い第 4712 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 21 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Expression of DcR3 in bone and soft tissue tumors　（骨軟部腫瘍における DcR3 の検討）

審 査 委 員

主 査　教 授　秋田　穂束
教 授　上野　易弘
教 授　平井　みどり

（課程博士関係）

学位論文の内容要旨

Expression of DcR3 in bone and soft tissue tumors

骨軟部腫瘍における DcR3 の検討

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻
整形外科学
（指導教員：黒坂　昌弘教授）

今堀　正也

【背景】

Fas は tumor necrosis factor (TNF) receptor family の一つで、FasL などのリガンドが結合することにより apoptosis を起こし、細胞増殖を阻害する因子として知られている。多くの腫瘍では Fas の発現が確認されているが、Fas 由来の apoptosis が抑制を受け、その結果として腫瘍細胞の増殖を促進している可能性が示唆されている。このような背景を受け、最近 Fas 由来の apoptosis を抑制する Decoy receptor 3 (DcR3)/ TR6/ M68 が注目を受けている。

DcR3 は可溶性の蛋白で、TNF receptor superfamily の一つであり、そのリガンドとして FasL、Light、TL1A が知られている。DcR3 が FasL 等と結合することにより、FasL 等と Fas が結合することを競合的に抑制する。そして apoptosis を抑制することにより、DcR3 は apoptosis に対して抑制因子として働いている。DcR3 はすでに肺癌、大腸癌などの腫瘍で発現が確認されており、大腸や脾臓などの正常組織でも発現が確認されている。一方、骨軟部腫瘍においては DcR3 の発現は確認されていない。そこで我々は骨軟部腫瘍での DcR3 の発現とともに悪性腫瘍との関連を検討した。

【対象と方法】

本研究に使用した骨軟部腫瘍検体は、神戸大学付属病院で生検時に採取した 50 例である。全例ガイドラインに沿い、患者本人の同意を得ている。その内訳は骨肉腫 10 例、悪性線維性組織球種 (MFH) 10 例、脂肪肉腫 12 例、滑膜肉腫 6 例の悪性腫瘍 38 例、良性腫瘍は神経鞘腫 12 例である。

細胞株は骨肉腫 3 例 (KHOS、KTHOS、MG63)、MFH 4 例 (Nara H、Nara F、TNMY 1、GBS 1) を使用した。

これらを RT-PCR で DcR3 の遺伝子発現を確認し、western blotting で蛋白発現を確認した。さらに我々は Fas に対するリガンドと DcR3 との競合的結合関係

について注目しているため、real time PCR で Fas との発現量の比を検討した。

【結果】

RT-PCR にて DcR3 mRNA は 50 例中 47 例（94%）で確認できた。良性腫瘍の神経鞘腫は 12 例中 12 例で 100%の発現率であった。悪性腫瘍は骨肉腫 10 例中 10 例で 100%の発現率、MFH は 10 例中 9 例で 90%の発現率、脂肪肉腫は 12 例中 10 例で 83%の発現率、滑膜肉腫は 6 例中 6 例で 100%の発現率であった。悪性腫瘍 38 例中 35 例の発現で 92%、良性腫瘍は 12 例中 12 例の発現で 100%であったが、悪性腫瘍群，良性腫瘍群間に統計学的有意差は認めなかった。

Real time PCR では DcR3 mRNA の発現量と Fas mRNA の発現量の比を検討した。悪性腫瘍 35 例（RT-PCR で発現を認めた骨肉腫 10 例、MFH9 例、脂肪肉腫 10 例、滑膜肉腫 6 例）の DcR3 と Fas の mRNA 比の平均値は 1.50 であった。一方、良性腫瘍の神経鞘腫の DcR3 と Fas の mRNA 比の平均値は 0.34 であり、両群間に統計学的有意差を認めた。また、各腫瘍別に検討すると、骨肉腫 1.96、MFH 1.95、脂肪肉腫 0.84、滑膜肉腫 1.37、神経鞘腫 0.34 であった。高悪性度の骨肉腫、MFH、滑膜肉腫は低悪性度の脂肪肉腫や良性腫瘍の神経鞘腫に比べ、有意に DcR3 mRNA が Fas mRNA より多く発現していた。

細胞株については 7 例中 7 例の 100%で RT-PCR で DcR3 mRNA を確認した。Real time PCR での DcR3 と Fas の mRNA の比は KHOS が 3.05、KTHOS が 1.45、MG63 が 2.15、Nara H が 2.51、Nara F が 1.51、TNMY 1 が 1.81、GBS 1 が 2.56 であった。Western blotting での蛋白発現も全例で確認できた。Western blotting にて DcR3 の蛋白発現を判定量的に解析すると、骨肉腫細胞株が MFH 株より DcR3 の蛋白発現が強かった。Real time PCR による DcR3 mRNA 発現の結果を総合すると、DcR3 の蛋白発現は DcR3 mRNA 発現との相関関係を示すと考えられた。

【考察】

Pitti らは、DcR3 は肺癌や大腸癌での発現が認められ、DcR3 の過剰発現が Fas 由来の apoptosis を抑制すると報告している。また Shen らは、肝細胞癌で DcR3 発現群と、非発現群では、DcR3 発現群において apoptosis が有意に抑制されていると報告している。しかし、骨軟部腫瘍においては現在までに DcR3、Fas、FasL の発現などを報告したものはない。今回の研究で骨軟部腫瘍においても DcR3 の発現が認められた。

DcR3 の発現率について膵癌で 67%、大腸癌で 53%、肺癌で 44%との報告がある。今回の研究では生検検体で 50 例中 47 例（94%）、細胞株で 7 例中 7 例（100%）と高い確率での DcR3 の発現を認めた。悪性腫瘍と良性腫瘍との間に DcR3 mRNA 発現の差はなかった。さらに DcR3 の発現量と癌の apoptosis とは相関関係が示唆されており、Fas の発現量と癌の転移にも関係があるといわれている。我々は DcR3 mRNA の発現量と Fas mRNA の発現量の比をとり、Fas に対する DcR3 発現量の相対比と腫瘍悪性度の相関を検討した。高悪性度腫瘍は低悪性度腫瘍や良性腫瘍に比べ相対的 DcR3 の発現量が多かった。これは高悪性度ほど DcR3 により Fas 由来の apoptosis が抑制を受けている可能性を示唆している。以上の結果より、骨軟部腫瘍においても DcR3 は apoptosis 抑制の重要な分子のひとつと考えられるが、骨軟部腫瘍における DcR3 の機能は、さらに詳細な検討を要する。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲　第2036号	氏　名	今堀　正也
論文題目 Title of Dissertation	Expression of DcR3 in bone and soft tissue tumors 骨軟部腫瘍におけるDcR3の検討		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner　秋田 恭彦 副　査 Vice-examiner　土野 昌弘 副　査 Vice-examiner　平井みどり		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

DcR3は、TNF receptor superfamilyの一つであり、そのリガンドとしてFasL、Light、TL1Aが知られている。DcR3がFasL等と結合することにより、Fasを介したapoptosisが抑制され、DcR3はapoptosisに対して抑制因子として働いている。DcR3はすでに肺癌、大腸癌などの腫瘍で発現が確認されているが、骨軟部腫瘍においては確認されていない。本研究の目的は骨軟部腫瘍におけるDcR3の発現ならびに悪性腫瘍との関連を検討することである。

骨軟部腫瘍検体は生検時に採取した50例である。その内訳は骨肉腫10例、悪性線維性組織球腫（MFH）10例、脂肪肉腫12例、滑膜肉腫6例の悪性腫瘍38例、良性腫瘍は神経鞘腫12例である。

細胞株は骨肉腫3例（KHOS、KTHOS、MG63）、MFH 4例（Nara H、Nara F、TNMY 1、GBS 1）を使用した。

これらをRT-PCR、western blottingで発現を確認した。さらにFasに対するリガンドとDcR3との競合的結合関係について注目しているため、real time PCRでFasとの発現量の比を検討した。

RT-PCRでDcR3 mRNAは50例中47例（94%）で確認できた。良性腫瘍は12例中12例で100%の発現であった。悪性腫瘍は38例中35例の発現で92%であった。悪性腫瘍群，良性腫瘍群間に統計学的有意差は認めなかった。

Real time PCRでDcR3 mRNAの発現量とFas mRNAの発現量の比を検討した。悪性腫瘍のDcR3とFasのmRNA比の平均値は1.50であった。一方、良性腫瘍のDcR3とFasのmRNA比の平均値は0.34であり、両群間に統計学的有意差を認めた。各腫瘍別では、骨肉腫1.96、MFH 1.95、脂肪肉腫0.84、滑膜肉腫1.37、神経鞘腫0.34であった。高悪性度の骨肉腫、MFH、滑膜肉腫は低悪性度の脂肪肉腫や良性腫瘍の神経鞘腫に比べ、有意に相対的DcR3 mRNAが多く発現していた。

細胞株については全例ともにRT-PCRとwestern blottingでDcR3 mRNAと蛋白

発現を確認した。DcR3 と Fas の mRNA の比は KHOS が 3.05、KTHOS が 1.45、MG63 が 2.15、Nara H が 2.51、Nara F が 1.51、TNMY 1 が 1.81、GBS 1 が 2.56 であった。DcR3 の蛋白発現を判定量的に解析すると、骨肉腫細胞株が MFH 株より DcR3 の蛋白発現が強かった。Real time PCR による DcR3 mRNA 発現の結果を総合すると、DcR3 の蛋白発現は DcR3 mRNA 発現との相関関係を示すと考えられた。

現在までに DcR3 は大腸癌や肺癌や膵癌等で発現が認められ、DcR3 発現群は非発現群に比べ apoptosis が優位に抑制されているとの報告がある。本研究では生検検体で 94%、細胞株で 100%と高い確率での DcR3 の発現を認めた。また、DcR3 mRNA の発現量と Fas mRNA の発現量の比では高悪性度腫瘍は低悪性度腫瘍や良性腫瘍に比べ相対的 DcR3 の発現量が多かった。これは高悪性度ほど DcR3 により Fas 由来の apoptosis が抑制を受けている可能性を示唆している。以上の結果より、骨軟部腫瘍においても DcR3 は apoptosis 抑制の重要な分子のひとつと考えられるが、骨軟部腫瘍における DcR3 の機能は、さらに詳細な検討を要する。

本研究は、apoptosis 抑制分子である DcR3 について、その骨軟部腫瘍における役割を研究したものであるが、従来殆ど行なわれなかった骨軟部腫瘍におけるその発現と役割について重要な知見を得たと同時に、悪性骨軟部腫瘍の apoptosis への分子標的治療の今後の研究の新たなる材料となりうる点において価値ある集積であると認める。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があるものと認める。