

氏名(本籍) 東野克巳(滋賀県)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士(論)第302号
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日 平成15年3月27日
学位論文題目 **Malignant Rhabdoid Tumor Shows a Unique Neural Differentiation as Distinct from Neuroblastoma**
(悪性横紋筋様腫瘍における神経分化特異性－神経芽細胞腫との差異について－)

審査委員 主査 教授 服部隆則
副査 教授 岡部英俊
副査 教授 野田洋一

論文内容要旨

【目的】

Malignant rhabdoid tumor (MRT) は小児期、特に乳幼児期に好発し、容易に遠隔転移をきたす臨床的に極めて予後不良な悪性固形腫瘍である。組織学的には細胞質内に好酸性に染まる中間径フィラメントの集積した封入体を持つことを特徴とする。腫瘍組織起源については、筋原性、組織球性、上皮性、神経外胚葉性等様々な報告があるが、現在ではmultiphenotypic diversityを持つ特異な腫瘍であると考えられている。MRTの中にneural phenotypeを持つものが存在することは以前より報告されているが、その特性および神経分化様式についてはいまなお不明な点が多く、詳細な検討がなされた報告は極めて少ない。今回、我々はneural phenotypeを持つMRTの細胞生物学的特性、特にその神経分化の性質について着目し、詳細な検討を行った。比較対象として、小児期に好発する代表的な神経外胚葉起源の悪性固形腫瘍である神経芽細胞腫の細胞株を用い、神経分化の性質の差異についての検討を加えた。

【方法】

5つのMRT培養細胞株(TM87-16, STM91-01, TTC549, TTC642, YAM-RTK1)を使用し、reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法およびin situ hybridization法を用いてsynapsin I, neurofilament medium-size (NF-M), chromogranin A (CGA) mRNAの発現を検討した。同時に、synapsin Iと相反的に作用する事が報告されているneuron-restrictive silencer factor (NRSF)の発現についても検討した。分化誘導剤12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)を用いて各々の細胞株を分化誘導し、分化誘導前後のそれぞれのmRNAの定量をcompetitive PCR法にて行なった。同様にこれら蛋白の発現を免疫細胞化学染色法により確認した。さらに、5つの神経芽細胞腫培養細胞株(IMR-32, NB-1, NH-12, SCCH26, TGW)を使用して同様の実験を行い、MRTと神経芽細胞腫との差異について比較検討した。

【結果】

5つのMRT細胞株のうちTM87-16, TTC642の2株はsynapsin I, NF-M mRNAを発現した。この2つの細胞株はTPAによる分化誘導によって細胞形態学的にも神経突起様の細胞質突起を形成しneural phenotypeを持つことを確認した。TM87-16の1株は分化誘導後にCGA mRNAも発現した。TPAによる8日間の分化誘導によって、神経芽細胞腫細胞株ではsynapsin Iのup-regulationと、NRSFのdown-regulationを認めた。これに反して、neural phenotypeを持つMRT細胞株

TM87-16, TTC642においては分化誘導によりsynapsin I のdown-regulationと、NRSFのup-regulationを認めた。MRT細胞株におけるsynapsin I と、NRSFの相反関係は神経芽細胞腫細胞株のそれとは全く対照的な結果であった。そこで、分化誘導開始後の極短時間内のsynapsin I mRNAの発現について検討したところ、MRT細胞株TM87-16, TTC642においては分化誘導後6時間目にsynapsin I mRNAの発現量が最大となり、その後は急速にdown-regulationすることが判明した。

【考 察】

過去の報告によるとsynapsin I は腫瘍細胞の神経系への分化の初期段階に作用・発現する事が示唆されている。MRT細胞株TM87-16, TTC642はneural phenotypeを保持しているが、synapsin I の発現が見られるのは分化誘導開始直後の極初期の段階のみであり、神経芽細胞腫細胞株とは全く異なった神経系への分化様式を示した。MRT細胞株の神経分化能力は神経分化初期段階にのみ限られた不完全なものであると考えられ、臨床的に悪性度が高く、multiphenotypicな性質を持つMRTの特異的な特徴の一つと考えられた。

【結 論】

MRT細胞株にはneural phenotypeを持つものがある。しかし、その神経分化の性質においては、神経芽細胞腫とは全く異なり、不完全な神経分化能力しか持っておらず、非常に特異的なものであることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

本研究は悪性横紋筋様腫瘍（MRT）の神経分化について神経芽細胞腫との差異を検討したものである。MRT細胞株5株、神経芽細胞腫5株に対し分化誘導実験を行い、神経特異遺伝子（なかでも特にsynapsin I について）及び、その抑制遺伝子Neuron-restrictive silencer factor（NRSF）の発現を、RT-PCR, in situ hybridization, 免疫細胞化学染色法で検討した。2株のMRTはneural phenotypeを保持することが確認された。分化誘導後、神経芽細胞腫ではsynapsin I の減少と、NRSFの減少を認めた。一方、neural phenotypeを持つMRTではsynapsin I の減少と、NRSFの増加を認めた。MRTの神経分化能力は神経分化の初期段階にのみ限られた特異的なものであると考えられた。

本研究はMRTにおける特異な神経分化にNeuron-specific geneと抑制遺伝子NRSFの発現の観点から検討し、神経芽細胞腫との差異を解明した論文であり、博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。