

氏名	ふる やま ひろ あき 古 山 裕 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2396 号
学位授与の日付	平成 13 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	ROLE OF E-CADHERIN IN PERITONEAL DISSEMINATION OF THE PANCREATIC CANCER CELL LINE PANC - 1, THROUGH REGULATION OF CELL TO CELL CONTACT (細胞間接着の制御を介した E-Cadherin の膵癌の腹膜播種における役割— 膵癌細胞株 Panc-1 を用いて)
論文調査委員	(主 査) 教授 千葉 勉 教授 月田承一郎 教授 今村正之

### 論 文 内 容 の 要 旨

(目的) 膵癌は難治性癌のひとつで集学的治療に対しても抵抗性である。腹膜播種は予後不良因子のひとつであり、その分子機構において接着因子は重要である。本研究では、遺伝子を操作した同一膵癌細胞株を用いて、腹膜播種と接着因子との関連をより直接的に検証した。すなわち、播種能力の強い膵癌において腹膜播種形成と E-cadherin との関与を検討するために同一膵癌細胞株を用いて、E-cadherin が高発現の株と低発現の株を樹立し、さらにこの低発現株に対し E-cadherin 遺伝子導入した株を樹立しその浸潤能、腹膜播種形成能を比較した。

(方法) <細胞株の樹立> ヒト膵癌細胞株 Panc-1 を親株として、Transwell Chamber の通過性の差異を利用して高通過能株 (以下 HP) と低通過能株 (以下 LP) を作成した。E-cadherin 遺伝子導入株としては、HP に対しマウス E-cadherin 発現ベクター pBATEM2 と抗生剤耐性遺伝子発現ベクターの pCAGBSD を co-transfection して得た株 (以下 HP-mE2, HP-mE3) を用いた。コントロールとしては pCAGBSD のみを HP に遺伝子導入した株 (以下 HP-B1) を使用した。

<接着分子発現の検討> 各細胞株に対してヒト E-cadherin, マウス E-cadherin, Cd44H,  $\beta 1$  integrin の発現を immunoblot 法で、また前二者においてはその局在を immunofluorochemistry で検討した。

<in vitro 浸潤能の検討> Invasion Chamber の膜通過数を計測して評価した。

<in vivo 腹膜播種> 膜播種能はヌードマウスの腹腔内に各を  $2 \times 10^6$  個接種し 6 週後に播種巣の数を計測した。

<腫瘍形成能の検討> 腫瘍形成能は各細胞株をマウスの膵尾部に  $2 \times 10^6$  個接種し 6 週後に腫瘍形成の有無と腫瘍体積を計測して評価した。

(結果) immunoblot 法での比較検討ではヒト E-cadherin は LP においてのみ発現し、マウス E-cadherin 発現は HP-mE2, HP-mE3 に認められた。各細胞株において Cd44H,  $\beta 1$  integrin の発現には差を認めなかった。immunofluorochemistry で E-cadherin の局在は LP, HP-mE2, HP-mE3 においてそれぞれの細胞間の細胞膜に存在していることを確認した。

浸潤能は LP でコントロールに比べ有意に減弱していたが、LP の浸潤能は抗ヒト E-cadherin 抗体添加によって回復、増強した。また、HP-mE2, HP-mE3 では E-cadherin 導入によってコントロール株に比べて有意に浸潤能は減弱した。

腹膜播種形成能は LP では HP に比しその頻度、程度とも有意に低下していた。また HP-mE2, HP-mE3 においても HP-B1 に比し有意に低下していたが、HP と HP-B1 では有意差を認めなかった。しかし、腫瘍形成能はいずれの細胞株においても有意差を認めなかった。

(結論) 本研究では E-cadherin 発現の増強が膵癌の浸潤能を低下させ、さらには腹膜播種の形成も抑制することを遺伝子導入株を用いて明らかにした。E-cadherin 発現によって増強する細胞相互間の接着力が細胞個々の運動能の自由度を低下させて、局所における浸潤、そして腹膜播種形成時の腹膜への潜り込みを低下させた可能性が示唆された。しかし、E-

cadherin の発現は腫瘍の増殖能には影響を与えなかった。

#### 論文審査の結果の要旨

膵癌において腹膜播種は予後不良因子であり、その分子機構において接着因子は重要である。申請者は、遺伝子を操作した膵癌細胞株 (Panc-1) を用いて、腹膜播種と接着因子との関連をより直接的に検証した。腹膜播種形成と E-cadherin との関与を検討するために同一細胞株から、E-cadherin が高発現の株 (LP) と低発現の株 (HP) を樹立し、さらにこの低発現株に対し E-cadherin 遺伝子導入した株 (HP-mE2, HP-mE3) を樹立しその接着分子の発現と *in vitro* の浸潤能、ヌードマウスにおける腹膜播種形成能を比較した。各細胞株において E-cadherin 以外の Cd44H,  $\beta 1$  integrin の発現には差はなかった。浸潤能は LP で HP に比べ有意に減弱していたが、LP の浸潤能は抗ヒト E-cadherin 抗体添加によって回復、増強した。HP-mE2, HP-mE3 では浸潤能は減弱した。腹膜播種形成能は LP では HP に比し頻度、程度とも有意に低下していた。HP-mE2, HP-mE3 でも低下していた。以上から、E-cadherin 発現の増強が膵癌の浸潤能を低下させ、さらには腹膜播種の形成も抑制することが明らかになった。E-cadherin 発現により増強する細胞相互間の接着力が細胞個々の運動能を低下させ、局所における浸潤、腹膜播種形成時の腹膜への潜り込みを低下させる可能性が示唆された。

以上の研究は、膵癌の浸潤と腹膜播種形成における E-cadherin の役割の解明に貢献し、膵臓癌の研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年3月9日実施の論文内容とそれに関連した試問をうけ、合格と認められたものである。