

氏名	みやもと よし はる 宮 本 好 晴
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2288 号
学位授与の日付	平 成 12 年 11 月 24 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	膵癌における Bcl-XL の発現と放射線感受性

論文調査委員 (主査) 教授 野田 亮 教授 平岡真寛 教授 今村正之

### 論 文 内 容 の 要 旨

癌治療におけるアポトーシス誘導の分子機構において Bcl-2 関連因子が重要な役割を果たしていることは知られているが、膵癌においては未だ不明な点が多い。本研究では、膵癌における Bcl-2 関連蛋白の発現、特に治療抵抗性と深く関与しているといわれている Bcl-XL 発現と放射線感受性の関与について検討した。

京都大学第一外科で得られた浸潤性膵管癌切除標本30例、膵管内乳頭腫瘍23例（悪性：16例，良性：7例）において、Bcl-2, Bcl-X, Mcl-1, Bax の免疫組織染色を行ったところ、染色率はそれぞれ、Bcl-2:7/30 (23%), Bcl-X:27/30 (90%), Mcl-1:27/30 (90%), Bax:16/30 (53%) で、膵癌組織では Bcl-2 関連蛋白それぞれの発現頻度に差を認め、特に Bcl-XL, Mcl-1 は共に90%と極めて高い発現率を示した。膵管内乳頭腫瘍における Bcl-X の発現率は、良性例：4/7 (57%), 悪性例：14/16 (88%) で、その染色性は不均一であり、特に悪性度が高いと考えられる乳頭状の増殖を示す部位に染色強度の高い傾向が認められた。ヒト膵癌細胞株7株と膵癌切除標本6例を用いた Western blot で、Bcl-2, Bax は全ての細胞株に発現したが、細胞株により発現量が異なり Bax/Bcl-2 比に差異を認め、Bcl-X, Mcl-1 は膵癌細胞株7種全てに強発現していた。また、各種膵癌細胞株で認識された Bcl-X は Bcl-XL が優位であった。化学・放射線療法抵抗性に深く関与するとされるアポトーシス抑制性蛋白 Bcl-XL の発現が膵癌の治療抵抗性に関与している可能性が示唆された。

血球系細胞において、IL-6 添加により各種刺激によるアポトーシスを回避し、その回避機構に Bcl-2 関連蛋白が関与しているという報告がある。そこで IL-6 に注目し、膵癌細胞レベルでの IL-6 受容体発現および活性化との関連、IL-6 によるアポトーシス回避とその機序について検討した。ELISA, Western blot, 免疫沈降法による検討で、ヒト膵癌細胞4株において IL-6 産生能、IL-6R $\alpha$  (gp80) 発現と IL-6R $\beta$  (gp130) 活性化に相関を認めた。この4株のうち IL-6R $\alpha$  高発現株である CFPAC-1 と低発現株である AsPC-1 を選出し IL-6 を添加したところ、CFPAC-1 において IL-6 添加後早期にリン酸化 gp130 の発現が増強し、アポトーシス抑制性 Bcl-2 family である Bcl-2, Bcl-XL の発現が mRNA, 蛋白レベルで経時的に増強したが、AsPC-1 では変化を認めなかった、さらに IL-6 添加により放射線感受性は CFPAC-1 で有意に低下した。以上から、膵癌細胞において IL-6 添加はアポトーシス抑制性 Bcl-2 関連遺伝子・蛋白の up-regulation を介して細胞死回避を誘導した可能性が示唆された。

膵癌組織の90%に強発現し、放射線感受性に深く関与していると考えられているアポトーシス抑制性遺伝子 bcl-xL に注目し、Antennapedia carrier peptide を用いた bcl-xL antisense を膵癌細胞に導入したところ Bcl-XL 蛋白の発現低下を認め、さらに放射線感受性が劇的に上昇した。

本研究から、アポトーシス抵抗性 bcl-2 関連遺伝子である bcl-xL が膵癌治療の有効な標的になると考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、膵癌における Bcl-2 関連蛋白の発現、特に治療抵抗性に深く関与しているといわれている Bcl-XL 発現と

放射線感受性の関与について検討した。京都大学第一外科で得られた浸潤性膵管癌切除標本30例における Bcl-2 関連蛋白 (Bcl-2, Bax, Bcl-XL, Mcl-1) の免疫組織学的検討で、アポトーシス抑制性蛋白 Bcl-XL の染色率は 27/30 (90%) と高頻度に発現していた。次にヒト膵癌細胞 4 株のうち IL-6R $\alpha$  高発現株である CFPAC-1 と低発現株である AsPC-1 を選出し IL-6 を添加したところ、CFPAC-1 においてアポトーシス抑制性 Bcl-2 family である Bcl-2, Bcl-XL の発現が mRNA, 蛋白レベルで経時的に増強したが、AsPC-1 では変化を認めなかった。また IL-6 添加により放射線感受性は CFPAC-1 で有意に低下した。膵癌細胞において IL-6 添加はアポトーシス抑制性 Bcl-2 関連遺伝子・蛋白の up-regulation を介して細胞死回避を誘導した可能性が示唆された。さらに bcl-xL antisense を膵癌細胞に導入したところ Bcl-XL 蛋白の発現低下を介した放射線感受性の劇的な上昇を認めた。

本研究から、アポトーシス抵抗性 Bcl-2 関連遺伝子である Bcl-XL が膵癌治療の有効な標的になると考えられた。

以上の研究は、膵癌細胞の放射線感受性規定因子の解明に貢献し、消化器癌のなかで最も難治性である膵癌の治療の発展に寄与するところが多い。従って、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12年10月25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。