

|             |                                                                                                                                                                                               |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | まつ い よし ゆき<br>松 井 喜 之                                                                                                                                                                         |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                     |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 3235 号                                                                                                                                                                                  |
| 学位授与の日付     | 平 成 20 年 3 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 外 科 系 専 攻                                                                                                                                                                           |
| 学 位 論 文 題 目 | Sensitizing effect of galectin-7 in urothelial cancer to cisplatin through the accumulation of intracellular reactive oxygen species<br>(galectin-7 による細胞内活性酸素種の蓄積を介した尿路上皮癌のシスプラチン感受性増強効果の検討) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 福 島 雅 典 教 授 戸 井 雅 和 教 授 上 本 伸 二                                                                                                                                                  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

浸潤性尿路上皮癌の治療成績向上のためには、膀胱全摘除術をはじめとする外科的治療法の進歩とともに、cisplatin (CDDP) を主体とする多剤併用化学療法に対する感受性を増強する新規分子標的の同定、より適切な症例に化学療法を施行する為の新規化学療法感受性マーカーの同定が必要と考えられる。今回、膀胱癌細胞株に CDDP を負荷することで発現が変化する遺伝子群を cDNA マイクロアレイにて解析したところ、ガラクトース結合レクチンファミリーのひとつで、主に皮膚などの立方上皮でアポトーシス誘導因子とされている galectin-7 の発現が経時的に亢進していたことから、尿路上皮癌における化学療法感受性と galectin-7 の関係についての検討を行った。

まず、膀胱癌細胞株での galectin-7 の発現を確認するため、野生型 p53 を有する 2 細胞株 (RT4、RT112)、変異型 p53 を有する 3 細胞株 (TCCsup、EJ、J82) に IC50 濃度の CDDP を負荷し、定量的 RT-PCR 法にて galectin-7 発現を確認したところ、野生型 p53 を有する 2 細胞株ではアポトーシスの誘導と共に galectin-7 発現を認めたのに対し、変異型 p53 を有する 3 細胞株ではいずれも galectin-7 は誘導されなかった。RT112 に変異型 p53 遺伝子を導入することで CDDP 負荷による galectin-7 発現誘導が抑制されることから、尿路上皮癌においても galectin-7 は p53 依存性に制御されると考えられた。

更に、galectin-7 のアポトーシス誘導における重要性を検討するため、内因性に galectin-7 を発現しない TCCsup、EJ の 2 細胞株に galectin-7 遺伝子を安定導入し、CDDP 感受性変化を MTT assay や Hoechst 染色にて観察したところ、コントロール株と比較して galectin-7 導入亜株ではアポトーシス誘導が亢進しており、尿路上皮癌において galectin-7 強制発現は CDDP 感受性を増強することが示された。また、その際の細胞内機序として、galectin-7 は CDDP による細胞内 ROS (reactive oxygen species、活性酸素種) 蓄積を亢進させ、その結果 MAPK 経路のひとつである c-Jun N-terminal kinase (JNK) を活性化し、最終的に Bax 活性化を介してミトコンドリア経路のアポトーシスを誘導することが判明した。これらの結果から、今後尿路上皮癌における galectin-7 発現誘導は化学療法耐性克服の為の新規分子標的治療となりえる可能性があると考えられた。

また、化学療法感受性マーカーとしての galectin-7 発現の重要性を検討するため、浸潤性膀胱癌術前化学療法前に経尿道的に採取された腫瘍サンプルから RNA を抽出、cDNA を合成し、定量的 RT-PCR にて化学療法感受性と galectin-7 の発現量の関係を検討した。その結果、galectin-7 発現は癌部で有意に低下しており、化学療法抵抗性癌でよりその傾向が強いことが判明したことから、galectin-7 は新規分子標的としてだけでなく、化学療法感受性予測マーカーとしても有用な可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、膀胱癌細胞株における cDNA microarray 解析の結果から、尿路上皮癌における化学療法感受性と galectin-7 の関係に着目し、galectin-7 によって惹起される細胞内アポトーシス経路の解明を試みている。

本研究の発端として、p53 野生型膀胱癌細胞株 RT112 において cisplatin (CDDP) 負荷前後での cDNA microarray 解析を行い、galectin-7 の発現が CDDP 負荷にて亢進することを見出した。

galectin-7 は p53 にて発現制御を受ける遺伝子であり、皮膚などの立方上皮ではアポトーシス誘導に寄与すると報告されている。これらのことから、尿路上皮癌における CDDP 感受性に galectin-7 が関与しているのではないかという発想に至った。

まず複数の尿路上皮癌細胞株にて galectin-7 の発現を確認し、内因性に galectin-7 を発現しない細胞株 (TCCsup, EJ) へ galectin-7 遺伝子導入を行った。MTT assay により、galectin-7 導入にて両細胞株の CDDP 感受性は亢進した。さらにその細胞内機序として、細胞内酸化ストレスの蓄積から c-Jun N-terminal kinase (JNK) が活性化されミトコンドリア経路の apoptosis が誘導されることを明らかにした。次に化学療法感受性マーカーとしての galectin-7 発現の重要性を検討するため術前化学療法前に膀胱腫瘍サンプルを採取し、実際の化学療法感受性と galectin-7 の発現量の関係を検討した。その結果、化学療法抵抗性癌では galectin-7 発現が低下している傾向が強いことが明らかとなった。これらの結果より、galectin-7 は尿路上皮癌の化学療法耐性克服における新規分子標的の候補遺伝子であるのみならず、化学療法感受性予測マーカーとしても有用であるという可能性が示された。

以上の研究は、尿路上皮癌の化学療法耐性機序の解明に貢献し、その克服のための新たな分子標的治療の確立、化学療法感受性予測因子の同定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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 3 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。