

氏 名	さわ ぶ たて お 澤 武 建 雄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3009 号
学位授与の日付	平 成 18 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Growth Arrest-Specific Gene 6 and Axl Signaling Enhances Gastric Cancer Cell Survival via Akt Pathway (Growth Arrest-Specific Gene 6 と Axl によるシグナルは Akt を介して胃癌細胞の生存を増強させる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 藤 田 潤

論 文 内 容 の 要 旨

受容体型チロシンキナーゼ (RTK) は様々な増殖因子の受容体として機能し、近年は癌に対する分子標的治療のターゲットとして注目されている。Growth Arrest Specific Gene 6 (Gas6) はビタミン K 依存性にカルボキシル化を受けて活性化するユニークな増殖因子で、RTK のひとつである Axl のリガンドである。申請者らは今回、Gas6 と Axl の胃癌における発現とその意義について調べ、胃癌に対する新しい分子標的治療の可能性を検討した。

胃癌組織28症例において Gas6 と Axl の発現量を real-time PCR 法にて測定し同一症例の非癌部と比較し、また臨床病理学的指標との相関関係をみた。さらに33症例の胃癌組織において Gas6 と Axl 蛋白の発現を免疫組織染色で調べた。また胃癌細胞株9系統において RT-PCR, Northern Blotting, Western Blotting により Gas6 と Axl の発現を検討した。さらに Axl の細胞外ドメインからなる decoy receptor (Axl-ECD) を作製し、Gas6-Axl の結合を阻害することにより、胃癌細胞株における細胞生存、アポトーシスや浸潤能の変化を、また代表的な RTK の下流のシグナルである MAP キナーゼ、Akt, STAT3 の活性に与える影響を検討した。

Real-time PCR 法では、胃癌組織では非癌部と比較して有意に癌部において Gas6, Axl ともに発現が亢進しており、また Gas6 の高発現はリンパ管浸潤との相関を認めた。免疫組織染色でも33症例中、Gas6 は10例 (30.3%) で、Axl は11例 (33.3%) で正常部よりも癌部で強く発現しており、またうち7例 (21.2%) は Gas6 と Axl が共に強く発現していた。胃癌細胞株9種中、Gas6 は5種 (55.5%)、Axl は3種 (33.3%) で mRNA および蛋白共に発現しており、またうち3種 (33.3%) で Gas6 と Axl が共に発現していた。そこで Gas6 と Axl を共に強く発現する胃癌細胞株 MKN7 を用いて、Gas6 と Axl のシグナル伝達を解析した。血清非存在下で Gas6 は MKN7 から培養液中に分泌され、Axl はビタミン K 存在下でのみチロシンリン酸化され活性化していた。次に Axl-ECD を培養液中に添加すると、Axl のリン酸化は減少し、同時に Akt のリン酸化が低下した。一方 ERK1/2 および STAT3 の活性は変化は認めなかった。また血清非存在下で Axl-ECD を添加すると、MKN7 の細胞生存数と浸潤能は有意に低下しアポトーシス細胞数が有意に増加していた。

Gas6-Axl のシグナリングは胃癌においてオートクライン的かつビタミン K 依存性に働き、PI3K-Akt 系を介した抗アポトーシス作用や浸潤作用によって、胃癌の進展に関わっていると思われる。本シグナル伝達系の阻害は、胃癌に対する新たな分子標的になりえる可能性があると思われる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

進行胃癌に対する化学療法は未だ確立されたものが乏しく、その予後は不良である。近年、癌に対する分子標的治療が注目されており、受容体型チロシンキナーゼはその標的として最も期待され、臨床的に有効性が示されているもののひとつである。申請者は、受容体型チロシンキナーゼ Axl とそのリガンドであるビタミン K 依存性蛋白 Growth Arrest Specific Gene6 (Gas6) の発現を、進行胃癌臨床検体及び胃癌細胞株において検討し、両者の細胞生物学的役割を *in vitro* で解析

した。その結果、(1)進行胃癌臨床検体において、Gas6 および Axl はともに正常部に比べ癌部で発現がより亢進していた。(2)胃癌細胞株においても、Gas6 および Axl はともに発現していた。(3)胃癌細胞株において、Gas6-Axl 系は Akt の活性を増強させた。このとき MAP キナーゼおよび STAT3 の活性は変化しなかった。(4)胃癌細胞株において Gas6-Axl 系を阻害すると、アポトーシスの増強と細胞浸潤能の低下が認められた。以上の結果から、Gas6 および Axl は進行胃癌において高発現し、Akt を介した抗アポトーシス作用および浸潤能増強によって胃癌の進展に関与する可能性が示唆された。以上の研究は胃癌における Gas6-Axl 系の意義を明らかにし、胃癌における新たな分子標的治療の開発に寄与する可能性がある。

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18年4月6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。