

学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
学籍番号	11D735	氏名	小林 聖幸
論文題目	Galectin-9 suppresses cholangiocarcinoma cell proliferation by inducing apoptosis but not cell cycle arrest.		

(論文要旨)

【目的】

胆管癌は、胆管原発では最も多く、肝原発悪性腫瘍としては肝細胞癌に次いで多い悪性腫瘍である。ガレクチン9(Galectin-9:以下Gal-9)は、βガラクトシド結合蛋白質の1つであり、さまざまな癌種に対する増殖抑制効果が報告されている。しかし、胆管癌においてGal-9による増殖抑制効果についての報告はみられていない。胆管癌においてGal-9による増殖抑制効果とその抑制機構について検討し、Gal-9の抗腫瘍効果を示すターゲットmiRNAを同定することを目的とした。

【方法】

2種の胆管癌細胞株(TFK-1、HuH28)を採用した。それらに対し、種々の濃度のGal-9量を投与し、増殖抑制効果をMTT assayで検討した。Gal-9によるapoptosisの誘導をcaspase-cleaved keratin18を測定することにより検討した。TFK-1において、Gal-9投与による細胞内の細胞周期関連蛋白質群をWestern blot法を用いて検討し、フローサイトメトリーでGal-9投与による細胞周期の変化を解析した。Gal-9投与による、アポトーシス関連蛋白質群、レセプター型チロシンキナーゼ群、血管新生分子群を蛋白アレイチップで解析した。Gal-9の細胞増殖抑制に関連するマイクロRNAを同定するために2555分子が搭載されたチップを用いて網羅的に解析した。ヌードマウスを用いてGal-9の胆管癌腫瘍に対する抗腫瘍効果を検討した。

【結果】

2種の胆管癌細胞株(TFK-1、HuH28)共にGal-9投与によって濃度依存的に細胞増殖抑制がみられた(Fig. 1)。また両細胞共にGal-9投与でapoptosisが引き起こされていた(Fig. 2)。TFK-1において検討を加えると、Western blot解析及びフローサイトメトリーの結果から細胞周期関連分子と細胞周期に変化はみられなかった(Fig. 3)。アポトーシス関連蛋白質群ではcytochrome cがGal-9を投与することによって増強していた(Fig. 4)。レセプター型チロシンキナーゼ群では、EGF R、HGF R、FGF R3、IGF-1Rの減弱を認めた(Fig. 5)。血管新生分子群では明らかな変化はみられなかった(Fig. 6)。さらにTFK-1において、Gal-9投与群は非投与群と比較して異なるmiRNAプロファイルを形成していた(Fig. 7)。投与群で有意差(p<0.05)をもって上昇したmiRNAが22分子、減少したmiRNAは26分子であった。そして、TFK-1をヌードマウスに皮下移植し、Gal-9投与による抗腫瘍効果を検討するとGal-9 30 μgと90 μg共に非投与群と比較して有意差をもって増殖を抑制していた(Fig. 8)。

【考察・結語】

Gal-9はTFK-1及びHuH28において細胞増殖抑制効果を示し、apoptosisを引き起こしていた。TFK-1についての抑制機構は主にapoptosisの誘導であると考えられた。apoptosisの誘導にはcytochrome cの増加とそれに伴うcaspaseの活性化が関連していると考えられた。また同定されたmiRNAのうち、miR-198が増加しており、miR-198が胆管癌細胞においてGal-9のapoptosisや抗腫瘍効果に関連している可能性がある。

Fig. 1)

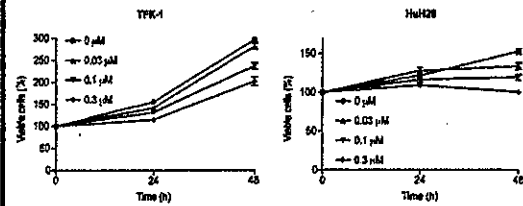


Fig. 2)

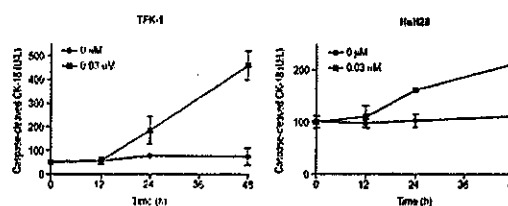


Fig. 3)

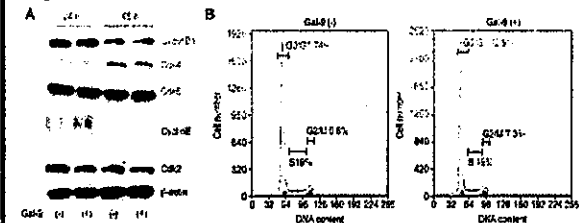


Fig. 4)

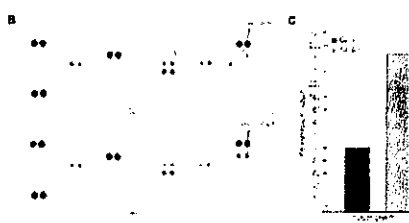


Fig. 5)

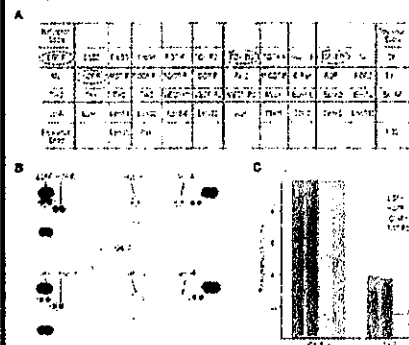


Fig. 6)

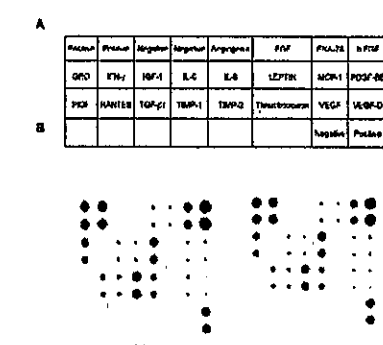


Fig. 7)

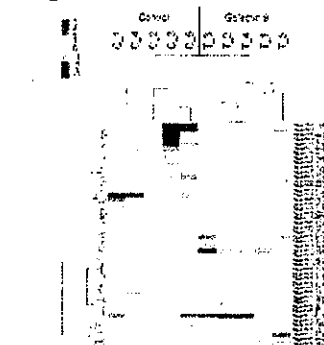
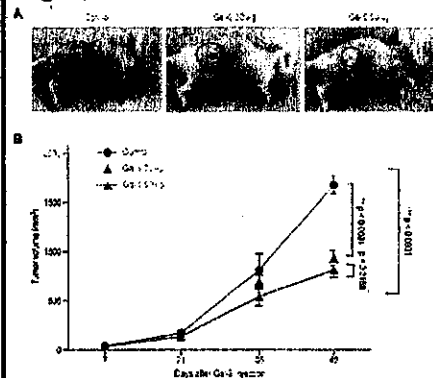


Fig. 8)



掲載誌名	Oncology Reports	第	巻,	第	号
(公表予定) 掲載年月	2015年6月2日 掲載受理	出版社(等)名	Spandidos Publications		
Peer Review	有	無			

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。