

学位授与番号：乙 3 1 2 1 号

氏 名：加藤 久美子

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 27 年 7 月 8 日

学位論文名：

肝癌細胞に対する mda-7/IL-24 の腫瘍抑制効果とシグナル伝達

主論文名：

肝癌細胞に対する mda-7/IL-24 の腫瘍抑制効果とシグナル伝達

学位審査委員長：教授 大橋十也

学位審査委員：教授 吉田清嗣 教授 井田博幸

# 論文要旨

(2部提出)

論文提出者名

加藤久美子

指導教授名 矢永勝彦

## 主論文題名

肝癌細胞に対する mda-7/IL-24 の腫瘍抑制効果とシグナル伝達

加藤久美子、佐伯知行、山崎洋次.

日本消化器外科学会雑誌、2005 ; 38、1280～1287.

## 要旨

【背景】 melanoma differentiation associated gene-7 ( mda-7) は癌増殖抑制効果を有する遺伝子である. アデノウイルスベクターを用いて mda-7 を癌細胞に導入する (Ad-mda-7) と, 癌特異的にアポトーシスを誘導することがさまざまな癌種で報告されている. 本研究では肝癌細胞株に対する mda-7 の腫瘍抑制効果およびアポトーシス誘導機序を *in vitro* で検討した.

【方法】 Ad-mda-7 をヒト肝癌細胞株 HepG2 細胞 (p53 正常型) および Hep3B 細胞 (p53 欠失型) に感染させ, 癌細胞株における mda-7 蛋白 (MDA-7) の発現の有無を検討した. さらに細胞生存曲線を作成し Ad-mda-7 感染により細胞増殖抑制効果を認めるか否かを検討した. また Ad-mda-7 感染によりアポトーシスが誘導されるのかを検討するために Western blot 解析を用いてアポトーシス関連蛋白の発現を評価した.

【結果】 両癌細胞株において Ad-mda-7 感染 72 時間後から有意な細胞増殖抑制効果を認めた ( $p < 0.05$ ). 感染 48 時間後には細胞内には MDA-7 の発現を認め, cleaved PARP を検出した. HepG2 では P53 および BAX の発現および cleaved caspase-8 の発現とその経時的な増加を認めた. Hep3B では BAX の発現レベルの増加を認めず, cleaved caspase-8 の発現を認めた.

【結語】 ヒト肝癌細胞株に対して Ad-mda-7 は効率的にアポトーシスを誘導し増殖抑制効果を持つことが示された. そのアポトーシス誘導経路は p53 依存的な経路のほか, caspase 活性化経路も関与していると考えられた.

## 論文審査の結果の要旨

加藤久美子氏の学位申請論文は主論文1編参考論文2編からなり、タイトルは「肝癌細胞に対する mda-7/IL-24 の腫瘍抑制効果とシグナル伝達」と題され、2005 年に日本消化器外科学会雑誌誌に発表された。以下、審査委員会における審査結果を記載する。

平成 27 年 6 月 29 日、吉田清嗣、井田博幸両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、加藤久美子氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

1. メラノーマの発症 mda-7 が機能的に関与している証拠は何か？
2. mda-7 は癌抑制遺伝子の定義を満たしているか？
3. 本治療法で癌特異的であるしくみは何か？
4. 増殖抑制でなくて Killing ではないか？
5. mda-7 の細胞内発現部位はどこか？
6. ウェスタンブロットでバンドが多数あるのは糖鎖の違いによるものか？
7. アポトーシスが起きたという直接的証拠は何か？
8. Caspase 3 の活性をチェックしたか？
9. 今回の結果で HepG2 で p53 依存的にアポトーシスが起きているとは言えないのではないか？
10. mda-7 の直接的ターゲットは何か？
11. 何故、現在まで本アプローチが肝癌細胞でやられてなかったのか？
12. その他の癌細胞と肝癌細胞でアポトーシスを起こすメカニズムは同じか？
13. アデノウイルスベクターの発現効率はどうくらいか？
14. 様々な解析が 72 時間までだが、それ以降はやる必要がないのか？
15. ウェスタンブロットの定量的データはあるのか？
16. CMV プロモーターを用いた理由は何か？
17. HepG3, Hep3B は mda-7 に遺伝子変異はあるのか？

これらの質問に対して、加藤久美子氏は適切に回答し、有用な議論がなされた。

その後、吉田、井田両審査員と慎重に審議した結果、本研究は肝臓癌の新規治療法をなす可能性のある有意義な研究であり、学位を授与するに十分な価値があると認めた次第である。