

審査の結果の要旨

氏名 町田 尚子

本研究は、胃癌腹膜播種モデル培養細胞株に対する多数遺伝子発現解析の結果、腹膜播種関係遺伝子と考えられた **galectin-4** 遺伝子について、播種巣形成に果たす役割に関する知見を得るため、正常組織と胃癌組織の免疫組織染色により発現分布を調べ、また、培養細胞における表現型および細胞内局在を検討したもので、下記の結果を得ている。

1. 正常組織および胃癌組織・腹膜播種組織における **galectin-4** の発現

正常組織 7 臓器について免疫染色を行った結果、正常組織では胃、大腸、食道の消化管上皮に発現が認められ、過去の RNA レベルでの発現パターンの報告と矛盾しない結果であった。また、胃癌組織においては、播種していない胃癌 5 例では **galectin-4** の発現が陰性 1 例、陽性 1 例、陽性・陰性混在型 3 例であった。播種した組織では、同一患者の胃原発巣および播種巣 4 組について、すべて両方で陽性であった。従って、播種巣の形成には **galectin-4** の発現が関係していると考えられた。

2. 胃癌培養細胞株 OCUM-2M に対する **galectin-4** 安定発現株を用いた機能解析

OCUM-2M に対する **galectin-4** の安定発現株 7 クローンを樹立し、この細胞株に対して増殖能・接着能・運動能および浸潤能を調べた。その結果、増殖能・接着能には変化が認められなかったが、運動能および浸潤能が亢進していた。さらに、生体内における播種巣形成能を調べるため、ヌードマウス腹腔内に OCUM-2M の **galectin-4** 安定発現株 3 クローンを投与したところ、播種巣は認められなかった。

3. 胃癌培養細胞株 MKN74TetOff の樹立および MKN74TetOff-g4 を用いた機能解析

galectin-4 遺伝子の発現によって浸潤能・運動能が亢進するという表現型の変化がスキルス胃癌由来の OCUM-2M に特異的であるか、あるいは胃癌細胞全般について生じ得るのかを検証する目的で、中分化型腺癌由来細胞株である MKN74 についても浸潤能および運動能のアッセイを行った。但し、**galectin-4** の発現による直接的効果を調べる目的で遺伝子発現制御型細胞株 MKN74TetOff を構築し、これを使用した **galectin-4** 発現系を使用した。その結果、MKN74TetOff の場合も同様に浸潤能・運動能が亢進することが確認できた。従って、この遺伝子が癌細胞の腹膜基底膜への浸潤と細胞運動に関わっている可

能性が示唆された。

4. 胃癌培養細胞株 MKN74TetOff-g4 における細胞内タンパク局在

galectin-4 タンパクの胃癌細胞内における機能に対する知見を得る目的で、抗 galectin-4 モノクローナル抗体を作製して細胞内局在を調べた。局在を調べる細胞には MKN74TetOff-g4 を使用し、galectin-4 の発現を誘導後の細胞に対して免疫蛍光染色を行った。その結果、galectin-4 タンパクは細胞質に局在が認められ特に ER に強く発現が認められた。

以上、本研究は胃癌腹膜播種巣形成に関係が深いと考えられる遺伝子 **galectin-4** に対して、胃癌と腹膜播種に対する免疫組織染色から、胃癌腹膜播種巣に確かに **galectin-4** 遺伝子の発現が見られることが初めて明らかになった。また、癌の悪性化や転移能獲得に必要な表現型である増殖能・接着能・浸潤能・運動能の解析を行い、その結果、この遺伝子発現により浸潤能および運動能が亢進することが明らかになった。さらに、このタンパクは MKN74TetOff 細胞において細胞質の特に小胞体に局在することが示された。

本論文は、これまで培養細胞の RNA の発現パターンから胃癌腹膜播種と関係があると考えられていたのみであった **galectin-4** 遺伝子に対し、a. 浸潤能・運動能の亢進 b. MKN74 における細胞内局在 c. 胃癌と腹膜播種巣におけるタンパク発現 の 3 点から機能解析を行ったものであり、胃癌における **galectin-4** 機能解析としては初めての研究である。従って、本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。