

# 論文審査の結果の要旨

氏名 今井 美沙

本論文は、顆粒膜細胞腫の悪性化機構解明の為に、顆粒膜細胞腫細胞株 KGN 細胞が有用であることを明らかにしようとした。KGN 細胞は継代を重ねるごとに細胞の増殖速度および浸潤能が亢進した。継代を重ねることによって悪性化した KGN 細胞はヌードマウスへの皮下移植によって腫瘍形成能を獲得した。同時に腸管への転移形成が観察され、結節数は継代数に応じて顕著に増加した。継代数の異なる KGN 細胞および正常顆粒膜細胞を用いた発現遺伝子解析により、がん細胞の増殖、浸潤、細胞死などにかかわりを持つ様々な遺伝子の発現変化を見出した。

## **顆粒膜細胞腫細胞株 KGN の細胞特性**

1. KGN 細胞は、癌細胞の特性を示すのみならず、アロマターゼ活性、ホルモン受容体の発現やプロゲステロン産生など、顆粒膜細胞の性質も保持している
2. 継代を重ねるにしたがって増殖速度を著しく増していく。
3. 異なる継代数の KGN 細胞を用いて、細胞増殖能およびマトリゲルに対する細胞浸潤能の測定を行ったところ、継代数を重ねた細胞（継代数 47 以上）は継代数の少ない細胞（継代数 10 以下）の約 2 倍の増殖能および浸潤能を示す。
4. 腫瘍マーカーとして悪性化に伴って発現が上昇する p53、OPN および Bag1 の発現亢進し、悪性度に伴い発現が減少する Bax の発現は顕著に減少していることが明らかとなり、細胞の継代を進めるにしたがって KGN 細胞の性質が変化し、腫瘍としての特性を増していることが示された。
5. KGN 細胞の in vitro における増殖能や浸潤能の変化については、ホルモンやストレスとの関連は否定的である。
6. 継代数の異なる KGN 細胞をヌードマウスの皮下に移植し、3 ヶ月間観察を行ったところ、皮下における造腫瘍は継代を重ねた細胞でのみ観察された。

7. KGN 細胞は皮下から腸への転移能をもち、腸に新生した結節数は継代を重ねた細胞を用いた方が少ない細胞を用いた場合よりも顕著に多い。

### 正常顆粒膜細胞と KGN 細胞の発現遺伝子解析

8. マウスにおいて顆粒膜細胞腫悪性化の原因遺伝子として報告されている Wnt/ $\beta$ -catenin などの発現は予想に反して比較的变化に乏しい。
9. ステロイド合成に関与する分子群の発現は全体的に減少傾向、アポトーシスやストレスに関与する遺伝子群の発現は抑制傾向が認められた。
10. 増殖に関連する遺伝子群、細胞外マトリックスを含む細胞接着を制御する遺伝子群の発現は大きく変化し、浸潤能と関わる遺伝子群の変化は小さいことが明らかとなった。
11. 正常細胞には発現が認められず KGN 細胞で強く発現が認められる 30 遺伝子のうち、9 遺伝子 (STC2、GPCR5B、LOXL1、LOXL2、BMP1、CREB3L1、FAM38B、COL1A1、NRXN3) が継代数の増加とともに KGN 細胞でさらに発現量が増加することが明らかとなった。

本研究では、ヒト腫瘍細胞株として非常にまれな顆粒膜細胞腫由来 KGN 細胞を用いて細胞生物学的な特性を解析した。この結果、KGN 細胞が継代数の増加にしたがって増殖能、接着能および浸潤能を高め、マウスへの皮下移植実験において皮下から腸に転移する頻度を増すというヒト腫瘍細胞株として極めて珍しい性質を示すことを明らかにした。また、発現遺伝子の解析から、顆粒膜細胞腫の悪性化にかかわる可能性がある候補遺伝子を多数同定した。以上の結果により、KGN 細胞が顆粒膜細胞腫悪性化機構の解明に極めて有用であることが明らかとなった。本研究により得られた新たな知見は、顆粒膜細胞腫の悪性化機構の解明、検査法および治療法の開発の基礎となるものと考えられる。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。