

審査の結果の要旨

氏名 川合 剛人

本研究は膀胱がんの浸潤・転移に関与する機構として、特に膀胱の尿路上皮における細胞間接着の破綻に着目し、膀胱の尿路上皮に発現する細胞接着分子 *CADM1* 及び *CADM4* 分子の異常が膀胱がんの進展に関与する可能性について検証するとともに、浸潤性膀胱がんの進展や患者の生命予後を予測するマーカーとなる可能性を追求したものであり、下記の結果を得ている。

1. 11 種のヒト膀胱がん培養細胞における *CADM1*、*CADM4* の発現を RT-PCR 解析、及びウェスタン・ブロット解析により解析した結果、それぞれ 6 種、及び 5 種の培養細胞で mRNA 及びタンパク質の発現の欠如が認められた。次に、パイロシーケンス解析により *CADM1* 遺伝子プロモーター領域のメチル化を解析したところ、*CADM1* mRNA の発現の欠如が認められた 6 種の膀胱がん培養細胞のうち 4 種の培養細胞でメチル化が認められ、また、Methylation-specific PCR (MSP) 法によって、*CADM4* 遺伝子プロモーター領域を含む CpG アイランドのメチル化を解析したところ、*CADM4* mRNA の発現の欠如が認められた 5 種の膀胱がん培養細胞のうち 2 種の培養細胞でメチル化が認められた。この結果から、膀胱がんにおいて *CADM1* 及び *CADM4* はそれぞれ高頻度に発現が欠如しており、それらの不活化の主な原因の 1 つとして遺伝子のメチル化が関与することが示唆された。
2. ヒト原発性膀胱がん組織標本における *CADM1* 及び *CADM4* の発現を免疫組織化学的解析により解析した。正常の膀胱では *CADM1*、*CADM4* 共に尿路上皮の細胞膜に発現が認められたのに対し、147 例の原発性膀胱がんでは *CADM1*、*CADM4* はそれぞれ 92 例 (63%)、88 例 (60%) において局在の異常もしくは発現の欠如が認められた。そして、*CADM1* 及び *CADM4* の発現異常はそれぞれ膀胱がんの pT ステージ (pTa/pT1 < pT2-4)、及び核異型度 (G1/G2 < G3) との相関が認められ (それぞれ $P < 0.001$)、膀胱がんの進展に関与する可能性が示唆された。
3. *CADM1* 及び *CADM4* の発現の異常と 112 例の根治的膀胱全摘除術を施行された膀胱がん患者の術後の生命予後との相関を Log-rank test により解析した。その結果、*CADM1* の発現異常は生命予後の不良と強い相関が認められた ($P < 0.001$)。これに対し、*CADM4* の発現異常は生命予後との相関が認められず、*CADM1* 及び *CADM4* の発現異常が膀胱がんの進展に果たす役割には大きな差があることが示唆された。さらに、Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を行い、*CADM1* の発現異常は、予後に影響を与える他の臨床病理学的特性とは独立した予後予測因子であることが示された ($P = 0.021$)。

4. マウスに浸潤性膀胱がんを生じるモデルとして一般に確立されている *N*-ブチル-*N*-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン (BBN) 投与によるマウス膀胱発がんモデルを、*Cadm1* 遺伝子ホモ欠損マウス、並びに C57/BL6 野生型マウスにおいて比較検討した。0.05% の BBN を 20 週投与した結果、*Cadm1* 遺伝子ホモ欠損マウスでは野生型マウスに比べ、有意に浸潤性膀胱がん (pT2-4) の生じる頻度が高く ($P = 0.028$)、膀胱の断面における膀胱がんの占める面積も大きかった ($P < 0.001$)。これらの所見から、*Cadm1* 遺伝子の欠失は膀胱がんの進展を促進するということが示唆された。

以上、本論文は膀胱尿路上皮に発現する CADM1 ファミリー細胞接着分子群のうち、CADM1 分子の発現の異常が膀胱がんの進展、特に浸潤に関与し、浸潤性膀胱がんの患者の予後の不良を示すマーカーとなり得ることを明らかにした。浸潤性膀胱がんは、予後が極めて不良であるにも関わらず、がんの進展や患者の生命予後を予測する有効なマーカーが確立されていないのが現状であり、本研究は、浸潤性膀胱がんにおける新たな予後予測マーカーの確立という難題に光明を与える可能性があると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。