

氏名（本籍）	わた 渡	なべ 部	りゅう 隆	じ 二
学位の種類	博 士 （ 医 学 ）			
学位記番号	医 第 3 3 1 4 号			
学位授与年月日	平 成 1 5 年 3 月 5 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
最終学歴	平 成 5 年 3 月 3 1 日 杏林大学医学部医学科卒業			
学位論文題目	Ganglioside G _{M3} over-expression induces apoptosis and reduces malignant potential in murine bladder cancer (マウス膀胱癌における G _{M3} 過剰発現による増殖・浸潤抑制効果)			
論文審査委員	(主 査) 教授 荒 井 陽 一 教授 大 内 憲 明 教授 八重樫 伸 生			

論文内容要旨

膀胱癌は泌尿器系の癌では最も頻度の高いものである。ヒト膀胱癌は発育増殖様式の違いから乳頭状癌と非乳頭状癌とに分類されるが、表在性膀胱癌のほとんどは乳頭状癌であり、浸潤性膀胱癌のほとんどが非乳頭状癌である。そして、乳頭状癌は表在性増殖を示し膀胱内で同時的、異時的に多発するが、比較的良好な予後をとる。一方、非乳頭状癌は浸潤性増殖を示し早期に遠隔転移をきたして予後不良となる例が多い。

さて、細胞膜糖鎖は癌化に伴って変化することが知られている。この糖鎖抗原の出現は癌の進展と深く関連しており、腫瘍マーカー或は予後の指標となっている。さらに近年、接着分子として、癌の転移、浸潤との関連が認められ、機能的側面も明らかとなりつつある。

このような理由から前述のような膀胱癌の著しい biological behavior の違いが糖鎖抗原の変化に反映されている可能性が予想された。

ヒト膀胱癌組織の糖脂質発現パターンについて検討した結果、乳頭状表在性腫瘍には、非乳頭状浸潤性腫瘍に比して大量のガングリオシド G_{M3} が蓄積されていることが、明らかになった。大山らは膀胱癌組織に外来性に G_{M3} を投与することにより、膀胱癌の浸潤能、増殖能が抑制されると報告している。しかし、これは、細胞培養系という限られた微小環境のなかで大量の糖脂質を外来性に投与する実験系であり、必ずしも細胞表面に内在する糖脂質の機能解析とは結びつかない点で、注意が必要である。 G_{M3} 過剰発現システムを膀胱腫瘍の治療として適応するためには、 G_{M3} が膀胱癌の浸潤において重要な役割を持つという直接的な証拠を、 G_{M3} 発現に関わる遺伝子の導入により得ることが必要であると考えた。

今回我々は、 G_{M3} の過剰発現の抗腫瘍効果を解明するに、適した癌細胞モデルを決定するために、種々のヒト膀胱癌細胞とマウス膀胱癌細胞 (MBT-2) について、糖脂質構成、糖転移酵素活性、m-RNA 発現を調べた。その結果、マウス膀胱癌細胞 (MBT-2) における G_{M3} の発現パターンは、ヒトの浸潤性膀胱癌のそれと類似しており、ヒト膀胱癌細胞のモデルとして適当であると判断した。

MBT-2 に G_{M3} 合成酵素 cDNA (SAT-1) を導入し Stable transfectants (MBT-2-SAT-1) を樹立した。 G_{M3} を過剰発現している MBT-2-SAT-1 は親株である MBT-2 と比較し、その浸潤能、増殖能、運動能において明らかに抑制されていることが分かった。

培養細胞について Tunel Assay を行ったところ、MBT-2-SAT-1 ではアポトーシス細胞が有意に多かった。細胞周期への影響を調べたところ、(S)期の細胞の割合は両者に差が認められなかった。これらの結果は、浸潤増殖能の抑制が、アポトーシス細胞の増加に起因していることを示唆している。

審査結果の要旨

本論文は、表在性膀胱癌と浸潤性膀胱癌との性状の違いを解明するための新たなアプローチとして、細胞膜に存在する糖鎖抗原の変化に着目している。これまでに、表在性膀胱癌には、浸潤性膀胱癌に比して大量のガングリオシド G_{M3} が蓄積されていること、マウス膀胱癌細胞に外来性に G_{M3} を投与することにより、膀胱癌の浸潤能、増殖能が著明に抑制されることが明らかとなっている。本研究では、膀胱癌における糖転移酵素活性および糖転移酵素の発現を mRNA のレベルで比較し、さらに G_{M3} 合成酵素遺伝子を膀胱癌細胞に導入することにより、細胞膜糖鎖の組成を変化させ、腫瘍細胞の特性の変化を観察した。

本研究では、はじめに G_{M3} 過剰発現の抗腫瘍効果を解明するに適した癌細胞モデルを決定するために、種々のヒト膀胱癌細胞とマウス膀胱癌細胞 (MBT-2) について、糖脂質構成、糖転移酵素活性、m-RNA 発現を調べた。その結果、MBT-2 における G_{M3} の発現パターンは、ヒトの浸潤性膀胱癌のそれと類似しており、ヒト浸潤性膀胱癌のモデルとして適当であると判断した。次に、MBT-2 に G_{M3} 合成酵素 cbNA (SAT-1) を導入し Stable transfectants (MBT-2-SAT-1) を樹立した。 G_{M3} を過剰発現している MBT-2-SAT-1 は親株である MBT-2 と比較したところ、その浸潤能、増殖能、運動能が抑制されていた。

さらに培養細胞について TUNEL Assay を行ったところ、MBT-2-SAT-1 ではアポトーシス細胞が有意に多かった。細胞周期への影響を調べたところ、(S)期の細胞の割合は両者に差が認められなかった。これらの結果は、浸潤増殖能の抑制が、アポトーシス細胞の増加に起因していることを示唆している。

これまで、糖鎖のリモデリングによって癌細胞における糖脂質の機能解析を行った報告は、泌尿器科領域では少なく、膀胱腫瘍においては本論文が最初である。本論文は、 G_{M3} を過剰発現する Stable transfectant を樹立し、その増殖、浸潤が抑制されることを明らかにした点、さらに G_{M3} が将来膀胱癌の治療に利用できる可能性を示した点で意義があると思われ、学位論文に十分に値する。