

氏 名 (本籍)                      <sup>から</sup>唐                      <sup>さわ</sup>澤                      <sup>ひで</sup>秀                      <sup>あき</sup>明

学 位 の 種 類                      博                      士                      ( 医                      学 )

学 位 記 番 号                      医 博 第                      2 6 5 8                      号

学位授与年月日                      平 成 21 年 3 月 25 日

学位授与の条件                      学位規則第 4 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻                      東北大学大学院医学系研究科  
(博士課程) 医科学専攻

学 位 論 文 題 目                      Downregulation of cIAP2 enhances 5-FU  
sensitivity through the apoptotic pathway  
in human colon cancer cells  
(大腸癌細胞における cIAP2 の発現抑制はア  
ポトーシス経路を介し, 5-FU 感受性を亢進さ  
せる)

(主 査)

論 文 審 査 委 員                      教授 佐々木                      巖                      教授 八重樫 伸 生

教授 鈴 木                      貴

## 論文内容要旨

5-fluorouracil (5-FU) は大腸癌の抗癌剤治療の中心であり、その耐性は化学療法の成功において大きな障害となっている。したがって、大腸癌症例の予後の改善には、5-FU に対する感受性の向上と、5-FU に付加しうる新規治療戦略、個々の患者での適切な抗癌剤の選択などが特に重要と考えられる。

私は大腸癌において新規5-FU 感受性・耐性関連遺伝子を同定すべく、大腸癌細胞株 DLD-1 と5-FU 耐性株 DLD-1/FU、さらに他の21種類の大腸癌細胞株の遺伝子発現プロファイルを cDNA マイクロアレイにより比較した。23細胞株の遺伝子発現プロファイルを用いたクラスタリング解析の結果、DLD-1 と DLD-1/FU は100倍以上5-FU 感受性が異なるにも関わらず、最も近く位置づけられた。また22細胞株と DLD-1 との間で2倍以上の発現差を持つ遺伝子の割合を検討したところ、DLD-1/FU 以外の21細胞株では4.8%から24.0%であるのに対し、DLD-1 と DLD-1/FU においては3.3%と少なく、このことから5-FU に対する感受性変化は限られた遺伝子発現変化により起こり得ると考えられた。しかしながら、クラスタリング解析と5-FU に対する  $IC_{50}$ 、また発現変化している遺伝子の割合を比較しても、明らかな相関は見出せず、5-FU に対する耐性機構は多様なメカニズムにより起きていることが示唆された。続いて、DLD-1 と DLD-1/FU の遺伝子発現プロファイルの比較により、5-FU 感受性・耐性関連遺伝子の抽出を試みた。DLD-1/FU において高発現していた遺伝子において、近年様々な癌で薬剤耐性への関与が報告されている IAP (inhibitor of apoptosis protein) family の一員である cIAP2 に着目し、その5-FU 耐性への関与を siRNA による発現抑制下に検討した。その結果、cIAP2 の発現抑制により大腸癌細胞株における5-FU 感受性は亢進し、cIAP2 の5-FU 耐性への関与が示された。さらに、その機序を解明すべく、アポトーシス経路に注目し検討を進めたところ、cIAP2 発現抑制によりカスパーゼ3/7の活性化とアポトーシスの誘導が認められ、cIAP2 は5-FU 曝露時に誘導されるアポトーシスを、カスパーゼ3/7を介して制御していると考えられた。

薬剤感受性を規定する経路は多岐に渡っていると考えられたが、一方で少ない数の遺伝子発現変化が5-FU 感受性を規定しうる可能性が明らかになった。cIAP2 を含めた IAP family の薬剤耐性への関与は大腸癌においてははまだ報告がなく、本研究により、他癌で報告されているような IAP family を標的とした治療戦略が大腸癌治療においても有望である可能性が示唆された。

## 審査結果の要旨

5-fluorouracil (5-FU) は大腸癌の抗癌剤治療の中心であり、その耐性は化学療法成功において大きな障害となっている。したがって、大腸癌症例の予後の改善には、5-FU に対する感受性の向上と、5-FU に付加する新規治療戦略、個々の患者での適切な抗癌剤の選択などが特に重要と考えられる。

本論文では、大腸癌における新規5-FU 感受性・耐性関連遺伝子を同定するために、大腸癌細胞株 DLD-1 と5-FU 耐性株 DLD-1/FU、さらに他の21種類の大腸癌細胞株の遺伝子発現プロファイルの比較を行った。23細胞株の遺伝子発現プロファイルを用いたクラスタリング解析の結果、DLD-1 と DLD-1/FU は100倍以上5-FU 感受性が異なるにも関わらず、最も近く位置づけられ、2倍以上の発現差を持つ遺伝子の割合も3.3%と少なかった。これより5-FU に対する感受性変化は限られた遺伝子発現変化により起こり得ると考えられた。続いて、DLD-1 と DLD-1/FU の遺伝子発現プロファイルの比較により、5-FU 感受性・耐性関連遺伝子の抽出を試みた。DLD-1/FU において高発現していた遺伝子において、IAP (inhibitor of apoptosis protein) family の一員である cIAP2 に着目し、その5-FU 耐性への関与を siRNA による発現抑制下に検討した。その結果、cIAP2 の発現抑制により大腸癌細胞株における5-FU 感受性は亢進し、cIAP2 の5-FU 耐性への関与が示された。さらに、その機序を解明するべく、アポトーシス経路に注目し検討を進めたところ、cIAP2 発現抑制によりカスパーゼ3/7の活性化とアポトーシスの誘導が認められ、cIAP2 は5-FU 曝露時に誘導されるアポトーシスを、カスパーゼ3/7を介して制御していると考えられた。

薬剤感受性を規定する経路は多岐に渡っているが、一方で少数の遺伝子発現変化が5-FU 感受性を規定する可能性が明らかになった。cIAP2 を含めた IAP family の薬剤耐性への関与は大腸癌においてははまだ報告がなく、本研究により、他癌で報告されているような IAP family を標的とした治療戦略が大腸癌治療においても期待される。

以上のように、本論文は新規知見に富み、その論旨も論理的・科学的であり、東北大学大学院医学博士の学位論文として値するものである。

