【306】

氏　名（本籍）	大窪千草（東京都）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	博甲第4769号
学位授与年月日	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**肺腺癌発生初期に関与する遺伝子発現変動とその意義：マウス肺発癌モデル及びヒト肺癌細胞株を用いた検討**

主　査	筑波大学教授	獣医学博士	八神健一
副　査	筑波大学教授	理学博士	石井哲郎
副　査	筑波大学教授	博士（医学）	檜澤伸之
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	石川成美

論文の内容の要旨

（目的）

A/J マウス肺発癌モデルはヒト肺腺癌に類似した特性を持つ。本研究では，A/J マウス肺発癌モデルを用いて，肺腫瘍発生前の肺組織における遺伝子発現変動を解析することにより，肺腺癌発生の初期段階で起きる遺伝子発現変化を明らかにすることを目的とした。また，発癌感受性の異なる雌雄 A/J マウスを比較することにより，肺癌発生の感受性決定に関与する遺伝子を特定し，その遺伝子及びタンパク質の発癌への関与機序について，*in vivo* 及び *in vitro* で検討した。

（対象と方法）

A/J 雌雄マウスに対して，発癌物質 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone（NNK）を投与後，定常期，急性反応期および腫瘍形成誘導期にマウス肺から RNA を抽出し，cDNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。次いで，腫瘍形成誘導期に有意な発現亢進を認めた *lactoferrin*（Lf）及び Lf 受容体 *Intelectin 2*（Itln2）の発現を，NNK 投与後肺組織を対象として *in situ* Hybridization 法により検討した。さらに，Lf の肺癌発生への影響を検討するため，ウシラクトフェリン（bLF）を A/J マウスに吸入投与し，肺組織を病理組織学的及び免疫組織化学的に解析した。

次に，ヒト肺由来細胞株における Lf 及び Itln1 の発現状況を明らかにするとともに，bLF のヒト肺腺癌細胞株の増殖能に及ぼす影響及びヒト異型腺腫様過形成（atypical adenomatous hyperplasia，AAH）細胞株のコロニー形成能に及ぼす影響を検討した。

（結果）

cDNA マイクロアレイを用いた解析により，13 遺伝子で NNK 投与前後の発現量に 4 倍以上の増減を認め，11 遺伝子で同時期の雌雄発現量に 2 倍以上の差を認めた。このうち，Lf を含む 6 遺伝子では NNK 投与前後で有意な発現量変化を認め，かつ，雌雄の発現動態に差異を認めた。Lf は，腫瘍形成誘導期において雌で有意な発現亢進を認めたが，雄では明らかな発現亢進は認めなかった。また，Lf 及び Itln2 は肺気管支上皮細胞で発現を認めた。bLF の吸入投与により，NNK 投与雌マウスの腺癌発生率及び腺癌形成数は有意に低

下した。

ヒト肺腺癌細胞株では，細胞株により Lf 及び Itln1 の発現状態が異なり，Itln1 を発現する細胞株で bLF により増殖能が抑制された。また，ヒト AAH 細胞株のコロニー形成能は，bLF により有意に低下した。

（考察）

NNK 投与マウスの肺において，Lf は腫瘍形成誘導期の雌マウス肺で特徴的な発現亢進を認めた。Lf は抗腫瘍活性を持つこと知られており，雌では雄に比してより早期から肺腫瘍形成が促進状態にあり，これを抑制するために Lf の発現が亢進したと推察された。bLF を吸入投与したマウスでは気管支上皮における杯細胞の過形成及び気管支や血管周囲への CD4 陽性リンパ球や形質細胞の浸潤が認められ，CD4 陽性 T リンパ球での IFN-γ 産生により血管新生が阻害され，肺癌発生が抑制された可能性が示唆された。一方，肺腺腫発生率及び形成数は，bLF 投与群でも雌で雄に比して高値であったことから，A/J マウスの肺腺腫発生の感受性に性差をもたらす要因として Lf 以外の因子の関与が考えられた。

ヒト肺由来細胞株を用いた解析から，ヒト肺癌細胞株及び AAH 細胞株のうち，Itln1 を発現する細胞株では bLF により細胞増殖能が抑制された。今後，Lf 及び Itln1 の発現状況をヒト肺癌組織の臨床材料で検討するとともに，その機能の詳細な解明が必要である。

（結論）

本研究において，A/J マウスの肺腺癌発生過程において発現量が変動し，雌雄マウスにおいて発現動態が異なる遺伝子として，6 遺伝子が明らかとなった。これらの遺伝子が，肺腺腫及び腺癌の発生或いはその感受性に関与していることが示唆された。bLF は雌マウスの肺腺癌発生率及び形成数を抑制し，さらにヒト肺癌細胞株及び AAH 細胞株の細胞増殖能及び悪性形質転換能を抑制した。Lf 遺伝子の発現は肺腺癌の発生に深く関与すること，Lf の発癌抑制作用には Itln1 の発現が不可欠であることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

肺癌は発生頻度が高く，なかでも肺線癌は最も発生頻度が高く女性に多い特徴をもつが，癌の発生過程における分子レベルでの解明は進んでいない。本研究は，A/J マウス肺発癌モデルを用いて，肺腫瘍発生前の肺組織における遺伝子発現変動を解析することにより，肺腺癌発生の初期段階で起きる遺伝子発現変化を明らかにすることを目的としたものである。その結果，Lf 遺伝子の発現が肺腺癌の発生に深く関与すること，Lf には発癌抑制作用があり，その作用には Itln1 の発現が不可欠であることが示唆された。今後，臨床材料での Lf 及び Itln1 の発現状況や機能を詳細に検討することにより，肺癌の病期進行度の評価や治療法の選択に応用することが期待できる。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。