

氏 名 (本籍)	レザ ベジャティ アルダカーニ (イ ラ ン)			
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)			
学 位 記 番 号	博 甲 第 5837 号			
学位授与年月日	平成 23 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	Study of apoptotic protease activating factor-1 gene in the pathogenesis of human testicular germ cell tumors (精巣の胚細胞腫瘍の発生における APAF-1 遺伝子の検討)			
主 査	筑波大学教授	博士 (医学)	大根田	修
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	沖	明 典
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	小 田	竜 也
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	坂 田	麻実子

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

APAF-1 (apoptotic protease activating factor-1) はアポトーシス制御に働く主要な遺伝子の一つとして知られており、がん抑制遺伝子である *p53* の標的遺伝子である。ある種のヒト由来がんにおいては、*APAF-1* 遺伝子の制御不全が原因で生じることが報告されており、発癌性および化学耐性との関連が指摘されている。実際、*APAF-1* 遺伝子欠損が悪性メラノーマ細胞の難治性および神経細胞分化に関係していることが分かっている。著者は、*APAF-1* 遺伝子の胚細胞腫瘍 (TGCT) の発癌性における役割を明らかにすることを目的として研究を行った。

(対象と方法)

著者は以下の方法を用いて解析を行った。

- 1) TGCT43 例と正常精巣組織 6 例についてパラフィン切片を作成し免疫組織染色を行い、*APAF-1*、cleaved caspase-3、Oct-3/4、および Ki-67 の発現を解析した。
- 2) TGCT 細胞株 (NEC8 と NEC14) に対して *APAF-1* 遺伝子発現を低下させることを目的として siRNA を導入し、それら導入細胞株に対して *Ki-67* 遺伝子、*Oct-3/4* 遺伝子、3 胚葉系の遺伝子マーカー (外胚葉系: *keratin16* [*KRT16*]、中胚葉系: *vimentin* [*VIM*]、内胚葉系: *GATA4*) の発現を解析した。
- 3) 上記の *APAF-1* siRNA 導入細胞 (NEC8) と導入前の細胞を用いて、cDNA マイクロアレイ法により、遺伝子発現解析を行った。その結果、発現に差が見られた *ARHGAP18* と *CNN2* について、アクチンをインターナルコントロールとしてリアルタイム PCR による定量を行った。

(結果)

APAF-1 がアポトーシスに関与する因子として報告はあるが、著者らは、TGCT における *APAF-1* の発現とアポトーシス誘導との関連性を見出せなかった。一方、精上皮腫において *APAF-1* と共に Oct-3/4 と Ki-67 の発現が正常組織と比較して有意に上昇していることを見出した。すなわち、TGCT において *APAF-1* 高発

現群は高い増殖能（Ki-67 高発現）および未分化性（Oct-3/4 高発現）を有していることを発見した。また、興味深いことに、著者は、この APAF-1 の発現が腫瘍の分化度合いが進行するにつれて、低下することを見出した。

TGCT 細胞株に siAPAF-1 を導入し、その発現を低下させた実験において、著者らは Ki-67 および Oct-3/4 の発現低下を見出した。さらに各胚葉系の分化マーカーである VIM ならびに KRT-16 の発現増加を認め、さらに腫瘍増殖能が低下することを明らかにした。

次に siAPAF-1 導入細胞とコントロール細胞間における遺伝子発現の違いをマイクロアレイ法により解析したところ、発現量に差のある 45 種類の遺伝子を見出した。この解析により、siAPAF-1 導入細胞において ARHGAP18 およびアクチン遺伝子の発現が低下し、CNN2 遺伝子の発現が増加していることを明らかにした。

（考察）

著者らは、TGCT において、APAF-1 高発現群では未分化マーカーである Oct-3/4 の発現と増殖能の指標である Ki-67 の発現が高いことを明らかにした。また、TGCT 細胞株である NEC8、NEC14 の APAF-1 ノックダウン細胞株において Oct-3/4 の発現が低下し、外胚葉マーカー、中胚葉マーカーの発現亢進を認め、また増殖能低下を発見した。

以上の結果より、TGCT において、APAF-1 が腫瘍の未分化性の獲得および増殖促進に関与していることを強く示唆している。加えて次に行ったマイクロアレイ解析から、APAF-1 をノックダウンすることで、ARHGAP18 および CNN2 遺伝子の発現が変化したことから、細胞骨格形成や細胞接着に何らかの役割を有する可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

以上の解析により、TGCT における APAF-1 の役割が、従来予想していたアポトーシスとは異なる新規の役割を有することが明らかとなった。ここで得られた知見は、TGCT に対する新規治療法開発に向けて進展する可能性があり、今後大いに期待できる内容である。

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。