



Title	Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells
Author(s)	喜井, 正士
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42670
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	喜井正士
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16113 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells (Galectin-3 は甲状腺乳頭癌細胞の悪性形質保持に関与する)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武
	(副査) 教授 野口眞三郎 教授 野村 大成

論文内容の要旨

【目的】

Galectin-3 は、 β -ガラクトシド結合性タンパクであり、細胞増殖、細胞接着、癌転移やアポトーシスなど多様な生物学的現象に関与しており、種々の悪性腫瘍において正常組織に比べその発現が亢進していることが報告されている。しかし、galectin-3 の発現亢進が細胞の悪性転換においてどのような機能を担っているかについては大部分が未だ不明である。これまでに我々は、甲状腺組織においては galectin-3 が正常組織や良性腫瘍である濾胞腺腫では全く発現されないのに対し、甲状腺濾胞細胞由来の悪性腫瘍では高発現されていることを明らかにし、更に甲状腺腫の穿刺吸引検体における galectin-3 の発現を解析することにより良・悪性腫瘍の鑑別診断を確実に行う方法を確立してきた。これらの結果により galectin-3 は甲状腺濾胞細胞の悪性転換に関与していることが示唆されるが、今回我々は galectin-3 を高発現する甲状腺乳頭癌細胞にアンチセンス galectin-3 を導入してその発現を抑制することにより、悪性形質がどのように変化するか解析した。

【方法ならびに成績】

Galectin-3 cDNA をアンチセンス方向に組み込んだ発現ベクター pCNC10/galectin-3 AS を作製し、これを galectin-3 を高発現する甲状腺乳頭癌細胞株 NPA にリポフェクション法にて導入し、NPA/AS1 と NPA/AS2 の 2 株を樹立した。同時にベクターのみを導入したコントロール株として NPA/V1 と NPA/V2 を樹立した。ネオマイシン耐性遺伝子と galectin-3 cDNA の発現を PCR 法により解析することにより、pCNC10/galectin-3 AS がゲノムに組み込まれていることを確認した。Northern blot 法にて galectin-3 mRNA を定量したところ、NPA/AS1 と NPA/AS2 では親株に比べそれぞれ 80% と 74% の発現抑制を認めた。Western blot 法にて galectin-3 の発現を定量したところ、NPA/AS1 と NPA/AS2 では親株に比べそれぞれ 95% と 60% の発現抑制を認めた。以上の細胞株についてまず細胞増殖能を解析したところ有意差を認めなかった。次に galectin-3 の悪性形質への関与を調べるため、細胞飽和密度、軟寒天培地での増殖能および血清依存性増殖能について解析した。血清依存性増殖能については低濃度の血清下ではいずれの細胞株も明らかな増殖を示さなかつた、即ちいずれの細胞株もその細胞増殖は血清依存性であった。これに対し細胞飽和密度は NPA/AS1 において有意に低下していた。また軟寒天培地での増殖能は NPA/AS1 と NPA/AS2 で有意に低下しており、特に NPA/AS1 の低下が顕著であった。これらの結果より甲状腺乳頭癌細胞においては galectin-3 の発現抑制の程度に応じて細胞飽和密度や軟寒天培地での増殖能

といった悪性形質が減弱することが明らかになった。つまり galectin-3 は甲状腺乳頭癌細胞の悪性形質保持において重要な働きをしていると考えられた。更に、galectin-3 は細胞外マトリクスの構成タンパクであるラミニンとファイブロネクチンに対する親和性を有するため、galectin-3 の発現の変化が癌転移の一過程である細胞浸潤にも影響を及ぼすか否か検討した。各細胞株のラミニンとファイブロネクチンに対する接着能には有意差を認めなかった。またマトリジェルを用いた細胞浸潤能の解析、ゼラチンザイモグラムによるマトリクスマタロプロテアーゼ (MMP-2, 9) の解析においても有意差を認めなかった。従って、甲状腺乳頭癌の細胞浸潤能に galectin-3 は関与していないと考えられた。

【総括】

甲状腺乳頭癌細胞において galectin-3 は悪性形質の保持に関与していることが示唆された。これは甲状腺乳頭癌の原発巣と転移巣において例外なく galectin-3 が高発現していることからも支持されるものと考えられる。Galectin-3 が悪性形質を保持する機構は明らかではないが、galectin-3 を高発現する細胞が anoikis を含むアポトーシスに耐性を有すこと、また *in vitro* における高細胞密度や軟寒天培地といった環境は anoikis を引き起こす環境に類似していることから、galectin-3 が抗アポトーシス因子として機能していることに因るものと思われる。

論文審査の結果の要旨

甲状腺において非悪性組織（正常組織・濾胞腺腫・腺腫様過形成）では galectin-3 が全く発現していないのに対し、濾胞細胞由来の悪性腫瘍（乳頭癌・濾胞癌・未分化癌）では原発巣・転移巣のいずれにおいてもび漫性に強く発現していることを免疫組織化学法により明らかにした。

つぎに穿刺吸引細胞診 FNA 検体における galectin-3 の発現を指標にした良・悪性腫瘍のより確実な鑑別診断手技の確立を目指した。FNA 検体より甲状腺濾胞細胞を純化し、回収した。これよりタンパクを抽出して、galectin-3 の発現を immunoblot 法にて検索し、術後の病理組織診の結果と合わせて解析した。galectin-3 の発現を認めなかったものはすべて濾胞腺腫であった。これに対し、galectin-3 の発現を認めた検体はすべて乳頭癌あるいは濾胞癌であり、100%の確率で良・悪性を鑑別できた。このように FNA 検体における galectin-3 の発現を指標にした良・悪性腫瘍の鑑別診断手技を確立した。

さらに galectin-3 を高発現する乳頭癌細胞株 NPA にアンチセンス galectin-3 を導入してその発現を抑制すると、悪性形質がどう変化するか解析した。アンチセンス株とコントロール株を樹立し、親株と合わせて比較した。これらの細胞間に細胞増殖能の差は認めなかった。次に悪性形質の変化を解析するため、細胞飽和密度および軟寒天培地での増殖能を調べた。galectin-3 の発現が抑制されたアンチセンス株では親株とコントロール株に比べ、細胞飽和密度や軟寒天培地での増殖能が抑制され、galectin-3 発現抑制の程度が大きいアンチセンス株においてより増殖能が抑えられた。これらの結果より甲状腺乳頭癌細胞では galectin-3 の発現抑制の程度に応じて悪性形質が減弱することが明らかになった。つまり、galectin-3 は甲状腺乳頭癌細胞の悪性形質保持に重要な働きをしていると考えられた。

本研究により galectin-3 が臨床上、甲状腺悪性腫瘍における腫瘍マーカーとして非常に有用であり、FNA 検体における galectin-3 の発現を指標にした良・悪性腫瘍の術前鑑別診断が可能であることが示された。また、galectin-3 は甲状腺乳頭癌細胞の悪性形質保持に重要な役割を演じていると考えられた。これらの研究成果は学位の授与に値すると考えられる。