

Title	Malignant Transformation of Thyroid Follicular Cells by Galectin-3
Author(s)	竹中, 幸則
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43857
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たけなかゆきのり 竹中幸則
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17684 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Malignant Transformation of Thyroid Follicular Cells by Galectin-3 (Galectin-3 による甲状腺濾胞細胞の悪性転換)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武 (副査) 教授 野口眞三郎 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

[目的]

Galectin-3 は β -ガラクトシド特異的レクチンであり、細胞接着、細胞増殖、アポトーシスなど多様な生物学的現象に関与している。また、galectin-3 は、種々の悪性腫瘍において正常組織と比べ発現が亢進していることが報告されている。これまでにわれわれは、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、濾胞細胞由来の悪性腫瘍ではび慢性に強く発現されていることを免疫組織化学により明らかにし、更に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甲状腺良・悪性腫瘍の鑑別診断を確実に行う方法を確立してきた。また、galectin-3 を高発現する甲状腺乳頭癌細胞株にアンチセンス galectin-3 を導入し、その発現を抑制したところ、悪性形質が有意に減弱した。こうした結果は甲状腺濾胞細胞の悪性形質の発現において galectin-3 が重要な役割を演じていることを示唆している。これを更に実証するため、本研究では galectin-3 を殆ど発現しない甲状腺正常濾胞細胞株 TAD-2 に galectin-3 cDNA を導入し galectin-3 を高発現させることにより、悪性形質を獲得するか否か解析した。

[方法ならびに成績]

Galectin-3 cDNA を組み込んだ発現ベクター pBK-CMV/galectin-3 を作製し、これを galectin-3 を殆ど発現しない甲状腺正常濾胞細胞株 TAD-2 にリポフェクション法にて導入し、TAD-2/G1 と TAD-2/G2 の 2 株を樹立した。また、pBK-CMV を同様の方法で導入し、コントロール株 TAD-2/V1、TAD-2/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、pBK-CMV/galectin-3、pBK-CMV 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 RNA レベルでの、Western blot 法にてタンパク質レベルでの TAD-2/G1、TAD-2/G2 の galectin-3 の発現の上昇を確認した。以上の細胞株について悪性形質の獲得の有無を調べるため、細胞飽和密度、血清依存性増殖能および軟寒天培地での増殖能について調べた。まず細胞飽和密度を解析したところ、TAD-2/G1 および TAD-2/G2 では親株、コントロール株と比べ優位に上昇していた。次に血清依存性増殖能を解析したところ、TAD-2/G1、TAD-2/G2 に血清依存性の離脱が見られた。また軟寒天培地での増殖能は TAD-2/G1、TAD-2/G2 のみにみられた。これらの結果より galectin-3 が甲状腺濾胞細胞を悪性転換させることが明らかになった。

更に galectin-3 の高発現が細胞浸潤能に影響を及ぼすかについても検討するため、細胞外基質の構成タンパク質であるラミニンおよびファイブロネクチンへの接着能、ゼラチンゼイモグラムによるマトリクスメタロプロテアーゼ (MMP-2、MMP-9) の活性、ポイデンチャンバー、マトリジェルを用いた *in vitro* 浸潤能の解析を行った。接着能、MMP-2、MMP-9 の活性には各細胞株間に有意差を認めなかった。浸潤能の解析においては、いずれの細胞株もマトリジェルを浸潤することができなかった。従って、甲状腺濾胞細胞の浸潤能には関与しないと考えられた。

また、cDNA マイクロアレイによる解析を行ったところ、TAD-2/G1、TAD-2/G2 ではコントロール細胞株 TAD-2/V1 と比べ *RB*、*PCNA*、*RFC4* という細胞周期の G1-S transition に関与している遺伝子の発現の増大が認められた。

[総括]

Galectin-3 の高発現は甲状腺濾胞細胞の悪性転換を誘導することが示された。これは正常組織、良性腫瘍においては発現されない galectin-3 が濾胞細胞由来の甲状腺癌細胞においては例外なく高発現していることから支持されるものと考えられる。Galectin-3 が悪性転換を誘導する機構は明らかではないが、galectin-3 の高発現はある種の癌細胞で G1 arrest を起こすことによりアポトーシスを抑制すること、および本研究における cDNA マイクロアレイの結果から、galectin-3 が細胞周期の制御因子として機能していることによると思われる。

論文審査の結果の要旨

Galectin-3 は β -ガラクトシド特異的レクチンであり、細胞接着、細胞増殖、アポトーシスなど多様な生物学的現象に関与している。また、galectin-3 は、種々の悪性腫瘍において正常組織と比べ発現が亢進していることが報告されている。

甲状腺組織においては、galectin-3 は非悪性組織には認められず、濾胞細胞由来の甲状腺癌では全例に発現が見られる。このことは、galectin-3 が甲状腺濾胞細胞の悪性転換に関与していることを示唆している。これを実証するため、本研究では galectin-3 を殆ど発現しない甲状腺正常濾胞細胞株 TAD-2 に galectin-3 cDNA を導入し galectin-3 を高発現させることにより、悪性形質を獲得するか否か解析した。

Galectin-3cDNA を組み込んだ発現ベクター-pBK-CMV/galectin-3 を作製し、これを galectin-3 を殆ど発現しない甲状腺正常濾胞細胞株 TAD-2 にリポフェクション法にて導入し、TAD-2/G1 と TAD-2/G2 の2株を樹立した。これらの細胞株について、細胞飽和密度を解析したところ、TAD-2/G1 および TAD-2/G2 では親株、コントロール株と比べ優位に上昇していた。次に血清依存性増殖能を解析したところ、TAD-2/G1、TAD-2/G2 に血清依存性の離脱が見られた。また軟寒天培地での増殖能は TAD-2/G1、TAD-2/G2 のみにみられた。これらの結果より galectin-3 が甲状腺濾胞細胞を悪性転換させることが明らかになった。

さらに cDNA マイクロアレイによる解析を行ったところ、TAD-2/G1、TAD-2/G2 ではコントロール細胞株 TAD-2/V1 と比べ *RB*、*PCNA*、*RFC4* という細胞周期の G1-S transition に関与している遺伝子の発現の増大が認められた。

本研究は galectin-3 の高発現は甲状腺濾胞細胞の悪性転換を誘導することを示したものであり、学位に値する研究と思われる。