OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	SERPINE2 is a possible candidate promotor for lymph node metastasis in testicular cancer
Author(s)	永原, 啓
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54245
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

【109】

氏名	永原（ながはら）　啓（あきら）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　２３６７８　号
学位授与年月日	平成22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臨床医学専攻
学位論文名	SERPINE2 is a possible candidate promotor for lymph node metastasis in testicular cancer （SERPINE2は精巣腫瘍においてリンパ節転移を促進する可能性がある）
論文審査委員	（主査） 教　授　奥山　明彦 （副査） 教　授　森　　正樹　　教　授　福澤　正洋

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目　　的 〕

精巣腫瘍は20－34歳の成人男性の癌の中で最も多く、診断時約30%の患者において転移性腫瘍を有する。シスプラチンの導入以降、化学療法を中心とした治療により転移を有する精巣腫瘍患者の予後は改善されつつある。しかし、若年発症が多いため、完治できない場合はほとんどが病死に至る。また、完治し得た場合でも、化学療法による急性期のみならず晩期有害事象が問題となっている。そのため転移のメカニズムの解明し、新たな予防法や治療法を開発することが望まれている。本研究では、ヒト精巣腫瘍セミノーマ由来細胞株であるJKT-1と、その変異株で高い転移能を有するJKT-HMを比較することにより精巣腫瘍における転移促進因子の同定を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

JKT-1 5x10^6 cellsをヌードマウスの背側皮下に移植したxenograftモデルを作成し、JKT-1及びJKT-HM培養上清、PBSを腹腔内投与（300ul/body 16日間）したところ、5週目にJKT-HM上清投与群では13匹中12匹にリンパ節転移を認め、PBS投与群(2/5匹)やJKT-1上清投与群(5/9匹)に比べ有意に転移が増加していた(P＜0.05)。腫瘍の大きさに有意差を認めなかった。続いてin vitroにおいて、JKT-1及びJKT-HMの濃縮培養上清をJKT-1 cellに添加し、MTS assayでproliferationを、chamberを用いたmigration assayでmigrationを評価したところ、JKT-1の上清を加えた群とJKT-HMの上清を加えた群の間でproliferation及びmigrationに有意な差を認めなかった。以上よりJKT-HMの培養上清中に転移を促進する何らかの因子が含まれていると推察された。そこでJKT-1とJKT-HMに対しcDNAマイクロアレイ解析を行い、JKT-HMにおいて2倍以上の発現比を認める分泌蛋白をcodeする23種類の遺伝子を同定した。この中で我々はSERPINE2(発現比9.53)という遺伝子に注目した。SERPINE2は2番染色体の長腕に存在する分泌蛋白(44kDa)をcodeする遺伝子であり、serine protease inhibitorであるserpin super familyに属しthrombin、plasmin、plasminogen activatorを抑制するとされている。上述したxenograftモデルにおいてSERPINE2をknockdowしたJKT-HMの上清を投与した14匹中8匹にリンパ節転移を認め、JKT-HM上清投与群(13/14匹)やcontrol siRNAを導入したJKT-HM上清投与群(14/15匹)に比べ有意に転移が減少していた(P＜0.05)。腫瘍の大きさに有意差を認めなかった。腫瘍のproliferation及びリンパ管新生をKi-67及びLYVE-1の免疫染色で評価したが、JKT-HM上清投与群、control siRNAを導入したJKT-HM上清投与群及びSERPINE2をknockdownしたJKT-HM上清投与群の間に有意差は認められなかった。また腫瘍細胞の局所への浸潤は各群ともに認められなかった。SERPINE2を強制発現させたJKT-1の上清を投与した群においてリンパ節転移は83.3%(10/12匹)に生じており、control vector導入JKT-1上清投与群の66.7%(8/12匹)に比べ有意差はないものの頻度は増加していた。腫瘍の大きさに有意差を認めなかった。

〔 総　　括 〕

培養細胞上清の腹腔内投与を用いたxenograftのリンパ節転移モデルにおいて、ヒト精巣腫瘍のリンパ節転移促進候補遺伝子として分泌蛋白遺伝子SERPINE2を同定し得た。本研究では、SERPINE2による転移促進機序は解明できなかったが、腫瘍細胞に対するproliferationやinvasionの亢進といった作用は認めず、それ以外の経路でリンパ節転移を促進していると考えられ、新たな治療のターゲットとなる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒト精巣腫瘍細胞株であるJKT-1と、その高転移変異株JKT-HMを比較し精巣腫瘍における転移促進因子の同定を行った。まずJKT-1皮下移植モデルマウスに腫瘍細胞の培養上清を投与したところ、JKT-HM上清投与群ではJKT-1上清投与群に比べ有意にリンパ節転移が増加していた。in vitroにおいてJKT-1, JKT-HMの濃縮上清添加による、JKT-1のproliferation, migrationに有意差を認めなかった。JKT-1とJKT-HMに対するcDNAマイクロアレイ解析において、JKT-HMに高発現する分泌蛋白遺伝子SERPINE2を同定し、上述のマウスモデルにおいてSERPINE2をknockdowしたJKT-HMの上清投与群におけるリンパ節転移はcontrol群に比べ有意に減少し、またSERPINE2強制発現JKT-1の上清投与群におけるリンパ節転移は、control群に比べ増加している傾向にあった。以上より精巣腫瘍におけるSERPINE2の転移促進因子としての可能性が示唆され、学位論文に値する。