

学位授与番号	乙第 1632 号
学位授与年月日	平成 19 年 6 月 6 日
氏名	高澤 宏太郎
学位論文題目	Expression Analysis for the Identification of Genes Involved in Acquired Resistance to Cisplatin in Osteosarcoma Cells (骨肉腫細胞株におけるシスプラチン耐性関連遺伝子の発現解析)

論文審査委員	主査	教授	並木 幹夫
	副査	教授	宮本 謙一
			中尾 眞二

内容の要旨及び審査の結果の要旨

化学療法により骨肉腫の予後は飛躍的に向上したが、化学療法抵抗性や予後不良の症例も今なお多く薬剤耐性の克服が重要である。一方、抗癌剤を繰り返し投与していると細胞が耐性を獲得し抗癌剤の効果が弱まってくるといったことを臨床経験する。そこでシスプラチン耐性細胞における遺伝子発現を解析し、さらにシスプラチン投与によって遺伝子の発現がどのように変化していくのかを検討した。

OST 細胞にシスプラチンの低濃度を 3 ヶ月以上接触させることによって耐性株である OST/R 細胞を作成した。次に経時的な遺伝子発現の変化をみるため、週に 1 回 OST 細胞に IC50 の濃度のシスプラチンを 1 時間接触させ、これを 3 回繰り返すことによってできた OST/3 細胞と、5 回繰り返すことによってできた OST/5 細胞を作成した。次にそれぞれの細胞株から cDNA probe を合成し、1176 個の癌関連遺伝子がスポットされた nylon membrane に hybridization させ、フィルムに転写後 array gauge software にて発現解析をおこなった。さらに array の結果をもとにリアルタイム PCR により遺伝子発現量の定量化をおこない、macroarray の解析結果の再現性を確認した。

耐性株で発現が亢進している遺伝子は DNA 障害修復遺伝子や細胞周期関連遺伝子など 17 個の遺伝子であり、一方発現が低下している遺伝子は細胞骨格遺伝子やアポトーシス促進遺伝子など 14 個の遺伝子であった。また、経時的にみるとシスプラチン 3 回処理あるいは 5 回処理の時点で既に発現が亢進している遺伝子や、既に低下している遺伝子が認められた。化学療法の効果を維持するためには、耐性の獲得に関与する遺伝子の発現を制御することが必要であり、さらに早期の段階で変化する遺伝子をターゲットにすることにより最も効果的に耐性の獲得を防げるのではないかと考えた。今回の結果、骨肉腫細胞においてシスプラチン耐性に関与する遺伝子は、細胞増殖、アポトーシス、細胞周期、DNA 修復に関連する遺伝子に属していた。本研究は、実際の臨床に即したモデルを作成して耐性獲得における遺伝子発現の変化を調べることにより細胞の耐性獲得に早期の段階から遺伝子に関与してきていることを明らかにしたものであり、学位に値する研究であると評価された。