

# 主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏 名
<b>主 論 文 題 名</b>  Comprehensive screening of genes resistant to an anticancer drug in esophageal squamous cell carcinoma (食道扁平上皮癌における薬物療法耐性遺伝子の網羅的解析)			
<b>(内容の要旨)</b> <p>食道癌治療において、薬物療法を行う際、耐性獲得が問題となる。薬物療法に対する耐性は、腫瘍の遺伝子変異により生じ得る。本邦では、シスプラチン(cisplatin : CDDP)が食道癌薬物療法に広く用いられているが、今回、トランスポゾンを用いたCDDP耐性遺伝子の新しい網羅的解析により、薬物療法耐性遺伝子の同定を行った。</p> <p>トランスポゾンは1940年に発見された回文配列を持つ塩基配列であり、トランスポゼースがこの配列を認識してゲノムから切り出し、他の部位に挿入することで、ゲノム上の位置をランダムに移動可能である。この回文構造の間にサイトメガロウィルス(cytomegalovirus : CMV) プロモーターを挿入することで、ゲノム内をランダムに移動するCMVプロモーターが、その下流の遺伝子を強制的に高発現させることが可能である。トランスポゾン+トランスポゼースを大量の細胞に導入することにより、一つ一つの細胞がそれぞれランダムな遺伝子を高発現する系を構築することが可能となり、理論上は全遺伝子を網羅することが可能である。なお、トランスポゾンの移動先がある遺伝子配列上であった場合には、その遺伝子の低発現が起きる。</p> <p>このCMVがランダムな位置に導入された細胞株へ、野生型細胞では全滅する濃度の抗癌剤を暴露すると、その薬剤の耐性化に寄与する遺伝子を高発現もしくは低発現する細胞のみが生き残り、コロニーを複数形成する。これらからゲノムDNAを抽出し、SprinkettePCR法を用いてクローニングを行うことで、最終的にCMV挿入部位を同定し、薬剤耐性遺伝子の候補を同定可能である。今回食道扁平上皮癌株について、CDDP耐性遺伝子を解析した。</p> <p>上記の実験系で食道扁平上皮細胞8株より、37種類のCDDP耐性遺伝子候補が挙げられた。このうち、8種類の遺伝子は耐性株において高発現しており、29種類は発現が抑制されていた。この中には、骨髄増殖性腫瘍との関連があるJAK2、細胞増殖、細胞分化、発病などの、さまざまな生物過程にかかわると報告されているTRIM16Lが挙げられた。</p> <p>JAK2が耐性遺伝子候補として分離された細胞株において、リアルタイムPCRを行ったところ、野生株に比して有意にJAK2の発現が抑制されており (p=0.002697)、実験系の再現性が証明された。</p> <p>本手法の利点は、任意の細胞株と分子標的薬を任意の抗癌剤の組み合わせで、薬剤耐性遺伝子の解析が可能となる点であり、任意の遺伝子の高発現、低発現の両方について、一度に探索可能である点が優れている。また、理論上は全遺伝子を網羅することが可能であり、食道癌治療のキードラッグであるCDDPの耐性遺伝子候補が探索可能であった。</p>			