

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲第 953 号	氏名	花村 徹
論文審査担当者	主査 天野 純 副査 大森 栄 ・ 塩沢 丹里		

### (論文審査の結果の要旨)

閉経後ホルモン感受性乳癌において、アロマターゼ阻害剤(AI 剤)は乳癌局所でのエストロゲン産生を抑制し、エストロゲン受容体(ER)の活性を阻害し、その際に相対的に過剰となったアンドロゲンがアンドロゲン受容体(AR) を介して腫瘍抑制的に働くことでその作用を発揮する。3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (HSD3B1) によりジヒドロテストステロン (DHT)からアロマターゼ非依存的に産生される 5 $\alpha$ -Androstane-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (3 $\beta$ -diol)はエストロゲン活性を持ちホルモン感受性乳癌の増殖を促進することが報告されている。今回、ホルモン感受性乳癌細胞株を用いてこのようなアンドロゲン代謝産物依存性の細胞増殖機構が AI 剤耐性機構として働くかどうかを検証した。

まず MCF-7 乳癌細胞株に Estrogen response element (ERE)-green fluorescent protein (GFP)遺伝子を導入した E10 細胞を作成し、これをステロイド枯渇培地にテストステロン(TS)を添加した培養条件、すなわち AI 剤治療を想定した培養条件で長期培養し、5つの耐性株クローンを得た。種々の培養条件における各クローンの GFP 発現率をモニタリングし、アンドロゲン代謝産物依存性の ER 活性上昇を示すクローンを選択し2つの Variant 細胞株を樹立した。得られた Variant 細胞株を用いたような実験を行った。

1. Variant 細胞株において各種ステロイド投与時の細胞増殖、ER 活性およびエストロゲン応答遺伝子の発現について親株との比較検討を行った。
2. 各細胞株における各種ステロイド代謝酵素、ホルモンレセプターの発現量を比較検討した。
3. 親株の E10 細胞における HSD3B1 過剰発現、AR シグナルの抑制の意義について検討した。
4. ヒト乳癌組織由来の間質細胞とこれらの細胞株との共培養モデル系を用いて Variant 細胞株が AI 剤耐性を示すかどうかを検証した。

その結果、花村は以下の結論を得た。

1. Variant 細胞株においてアンドロゲンである TS や DHT、その代謝産物である 3 $\beta$ -diol は、エストロゲン応答遺伝子を誘導し、親株の E10 細胞に比べ高い ER 活性および細胞増殖をもたらすことが確認された。
2. Variant 細胞株では、HSD3B1 の発現上昇、AR 発現の低下が認められ、アンドロゲンから 3 $\beta$ -diol への代謝促進、AR を介するシグナル伝達の減弱が、エストロゲン枯渇、アンドロゲン過剰の条件への適応を促進していると考えられた。
3. 親株である E10 細胞に HSD3B1 遺伝子を過剰発現させた場合、あるいは AR 阻害剤を作用させた場合に、Variant 細胞株同様にエストロゲン枯渇、アンドロゲン過剰条件への適応が誘導されることが確認された。
4. Variant 細胞株の AI 剤感受性は親株の E10 細胞に比べ有意に低いことが確認された。

これらの結果により、本研究では、AI 剤治療を想定した培養条件からアンドロゲン代謝産物依存性細胞増殖機構を持つ細胞株を樹立し、その Variant 細胞株を用いた実験から、HSD3B1 発現の上昇、AR 発現の低下が、アンドロゲン代謝産物依存性の ER 活性化および細胞増殖を増強することで、AI 剤感受性を低下させることが示唆された。よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。