

京都大学	博士 ( 医 科 学 )	氏 名	大 原 浩 貴
論文題目	Stage-specific roles of <i>fibulin-5</i> during oxidative stress-induced renal carcinogenesis in rats (酸化ストレス誘発ラット腎癌における <i>fibulin-5</i> の発癌段階特異的な役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>鉄キレート剤である鉄ニトリロ三酢酸(Fe-NTA)をラットおよびマウスの腹腔内に反復投与すると、Fenton 反応を介した酸化ストレス傷害の蓄積により、高頻度に腎細胞癌(RCC)が誘発される。このラット腎癌において、比較ゲノムハイブリダイゼーションとマイクロサテライト解析により、全ゲノムに渡る詳細な染色体解析を行った。すると、第 6 番染色体の q14 から q32 の領域に渡って、高頻度(31.8~52.4%)にヘミ欠失があることが明らかになった。遺伝子発現マイクロアレイ解析から、6q32 に存在し、発現レベルが RCC において著しく低下している <i>fibulin-5</i> を一つの癌抑制遺伝子候補として選択した。</p> <p><i>fibulin-5</i> は弾性線維の足場として重要な分泌型糖タンパク質である。定量的 Real-time PCR 解析により、解析した全ての RCC において、<i>fibulin-5</i> の発現レベルが顕著に低下していることが確認された。しかしながら、腫瘍間で比較すると、western blot 解析で肺転移を伴う RCC において <i>fibulin-5</i> タンパクの相対的発現亢進が認められた。免疫組織化学染色により、正常のラット腎では動脈周囲および遠位尿細管に <i>fibulin-5</i> の強い染色を認め、Fe-NTA 投与後には近位尿細管における発現が著しく増加することが明らかになった。肺転移を伴う RCC では癌細胞に <i>fibulin-5</i> の強い染色が見られ、また、その周囲には転移との関連が示唆されている <math>\alpha</math> 平滑筋アクチン(<math>\alpha</math>-SMA)陽性の筋線維芽細胞の増生が認められた。このことから、肺転移を伴う RCC においては、<i>fibulin-5</i> を産生する癌細胞の周囲を、<math>\alpha</math>-SMA 陽性の筋線維芽細胞が取り巻き、癌間質を構築していると考えられた。転移を伴わない RCC では、<i>fibulin-5</i>、<math>\alpha</math>-SMA とともに陰性であった。本発癌モデルより樹立された癌細胞株 FRCC001 および FRCC562 にラット <i>fibulin-5</i> を安定発現させ、matrigel invasion chamber を用いて in vitro での浸潤能を評価したが、コントロールと比較して有意差は認められなかった。</p> <p>以上の結果から、mRNA レベルでは発現低下が見られるが、転移を伴う腫瘍では <i>fibulin-5</i> タンパクの発現量が増加する何らかの分子機構が存在し、<i>fibulin-5</i> が間質細胞などを介して間接的に癌細胞の浸潤・転移を促進すると推測した。本研究においては、<i>fibulin-5</i> が一種のサイトカインとして線維芽細胞に作用し、<math>\alpha</math>-SMA 陽性の活性型線維芽細胞へ分化誘導することで、癌細胞の浸潤・転移に有利な環境を生み出す可能性を示した。これまでに知られている弾性線維の形成や組織傷害修復のみならず、癌においては <i>fibulin-5</i> が癌の悪性を促進するメディエーターとして働く状況があると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

鉄ニトリロ三酢酸(Fe-NTA)のラット腹腔内投与により誘発される腎細胞癌(RCC)は、近位尿細管上皮細胞由来であり、肺転移を高頻度に来たすという点でヒト RCC との共通性が高い。

本研究では、同モデルを使用して、網羅的な染色体解析と発現アレイ解析により、*fibulin-5* をラット RCC における癌抑制遺伝子候補の一つとして選択した。*fibulin-5* はヒトの多くの腫瘍で発現低下が見られ、血管新生の制御による抗腫瘍作用を示す一方、上皮間葉転換の促進により癌の発生や悪性化に寄与するとの報告もあり、その詳細な役割については未知な点が多い。

*fibulin-5* mRNA の発現は解析した全てのラット RCC で著明に低下していた。しかし、腫瘍間で比較すると、肺転移を伴う RCC において *fibulin-5* タンパク質の相対的増加が認められた。免疫組織化学染色により、正常ラット腎では、動脈周囲と遠位尿細管で *fibulin-5* の陽性像が見られ、Fe-NTA 反復投与 1~3 週間により近位尿細管における陽性像が出現した。転移を伴わない RCC では陽性像は認められなかったが、転移を伴う RCC では、癌細胞に *fibulin-5* の強い陽性像が見られた。さらに、同部位に一致して、癌細胞周囲に  $\alpha$  平滑筋アクチン陽性の筋線維芽細胞の増生が観察された。以上の研究は癌の発生・進展機構の解明に貢献し、腎癌の早期診断法や予後因子の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 ( 医科学 ) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 2 月 10 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降