

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	結 城 加 奈 子
論文題目	E-cadherin–downregulation and RECK-upregulation are coupled in the non-malignant epithelial cell line MCF10A but not in multiple carcinoma-derived cell lines (正常上皮細胞株 MCF10A において E-カドヘリン発現低下は RECK 発現上昇を伴うが、複数のカルチノーマ細胞株においてはこの連動が見られない)		
(論文内容の要旨)			
TGFβ や低酸素など細胞外微小環境の変化によって誘導される上皮間葉転換 (EMT) は、個体発生において重要な生理的役割を担う一方、がん細胞においては浸潤・転移能の発現に関与することが知られている。多種の MMP を抑制する活性を持つ膜アンカー型糖タンパク質 RECK は、正常間葉系細胞で比較的高く発現されており、様々ながん組織における発現低下が報告されている。がん細胞で RECK を強制発現させると、移植モデルにおいて血管新生、増殖、浸潤、転移などの低下が見られることから、RECK は正常組織においてがん抑制因子として働くものと考えられている。 がんの多くは上皮細胞由来であるが、正常上皮細胞における RECK の役割についてはこれまで報告がない。特に、正常間葉系細胞では RECK 発現が高いにも関わらず、EMT を伴う場合の多い悪性度の高いがんで RECK 発現が低いことの意義については不明である。そこで本研究においては、EMT 誘導と RECK 発現の因果関係を明らかにすることを目的として、i) EMT は RECK 発現にどのような影響を与えるのか、ii) RECK は EMT にどのような影響を与えるのか、iii) EMT を起こした細胞において RECK はどのような効果を持つのか、の 3 点について検討を行った。 まず、ヒト正常上皮由来細胞株 MCF10A を血清や TGFβ 存在下で長期間培養すると E-カドヘリン低下を伴う EMT が誘導されるが、この時 RECK 発現が上昇することを見出した。興味深いことに、siRNA により E-カドヘリン発現を低下させた場合にも RECK の発現誘導が認められた。また、この効果には β-カテニン活性化が関与することが阻害剤を用いた実験から示唆された。 一方、3 種のがん由来細胞株 MCF7、MDA-MB-231、A549 においては、E-カドヘリン発現低下は RECK 発現上昇を伴わないことが見出された。この場合、ERK、Akt などを経するシグナル伝達経路の阻害剤によって RECK 発現が誘導されることから、がん遺伝子シグナルが EMT 後のがん細胞における RECK 発現抑制に関わることが示唆された。 次に、アデノウィルスベクターを用いて RECK をこれらの細胞株で強制発現させたところ、EMT マーカーの変動は検出されなかった。したがって、RECK が EMT の上流制御因子として働くという可能性は低いと考えられた。 さらに、TGFβにより急速な E-カドヘリン低下を伴う EMT が見られる肺がん由来細胞株 A549 において RECK 強制発現の効果を調べたところ、細胞増殖の抑制と共に EMT に伴って活性化される細胞遊走能やマトリックス浸潤能の抑制が見られた。また、これらの現象には、インテグリンα5 の分解抑制、フィブロネクチンへの接着亢進、遺伝子発現の変動などが関与することが示唆された。 以上の知見より、正常上皮細胞の EMT に伴って発現誘導される RECK は、細胞外タンパク質の分解抑制とそれに伴う遺伝子発現への影響を介して悪性形質の発現を抑制しており、がん遺伝子シグナルによる RECK 発現の低下は、がん細胞の悪性形質発現に強く関与することが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨) RECK は多くの癌で発現低下しており、RECK 強制発現はマウス移植腫瘍モデルにおいて血管新生、浸潤、転移の抑制をもたらす。一方、正常組織では間葉系組織において RECK 発現が高い。本研究は、上皮間葉転換 (EMT) と RECK との関係を明らかにすることを目的として行われた。 正常上皮由来細胞株 MCF10A に EMT を誘導すると、E-カドヘリン低下に伴う RECK 発現の上昇が見られ、この上昇には β-カテニンの関与が示唆された。EMT 後の癌由来細胞株では E-カドヘリン低下に伴う RECK 上昇は見られず、複数の機構による RECK 発現の抑制が示唆された。一方、RECK 強制発現は、正常、癌を問わず EMT の誘導や抑制効果を示さなかった。 次に、肺がん由来細胞株 A549 を用い、EMT 後の癌細胞に対する RECK の効果が検討された。その結果、RECK が細胞増殖、細胞遊走、浸潤を抑制し、この時、フィブロネクチン受容体量の増加と遺伝子発現プロファイルの変動を伴うことが見出された。すなわち、正常細胞で見られる EMT 後の RECK 発現上昇は、細胞外マトリックスとの相互作用を介した増殖、移動、遺伝子発現の制御をもたらすが、癌細胞で見られる RECK 発現の抑制は、こうした制御からの逸脱をもたらすものと考えられた。 以上の研究は、上皮系細胞における RECK 遺伝子の役割と発現制御機構の解明に貢献し、分子腫瘍学の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士 (医学) 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 2 6 年 5 月 9 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			