

論文内容要旨

論文題目

腎癌において α E-カテニン は細胞遊走に 関与する

責任講座： 腎泌尿器外科学 講座
氏 名： 末永 信太

【内容要旨】(1,200 字以内)

腎細胞癌の中で最も頻度の高い淡明細胞型腎細胞癌 (Clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) では、5 番染色体長腕 (5q31.2) のコピー数増加が約 6 割の頻度で観察されるが、その生物学的意義はほとんど検討されていない。我々は、転移性 ccRCC 57 検体のトランスクリプトーム解析を行い、5q31.2 領域上の遺伝子の mRNA 発現レベルをみた。その中で発現量が多く、腎癌では既報のない α E-カテニン (*CTNNA1*) に注目した。まず、TCGA データベースで確認したところ、ccRCC の 25% で *CTNNA1* の遺伝子増幅があり、コピー数と mRNA 発現には正の相関関係があった。

α E-カテニンは細胞間接着で重要な役割を担っているカテニンタンパク質ファミリーの 1 つである。細胞間接着において、細胞外ではカドヘリン同士が細胞膜を接着させ、その細胞内領域側裏打ち構造体として p120-カテニン、 β -カテニン、 α -カテニンが結合し、カドヘリン-カテニン複合体を形成、F-アクチンと結合し、細胞間接着を担う。また、他癌種では細胞増殖、細胞遊走、細胞浸潤、上皮間葉移行 (EMT)、YAP 経路に係わると報告されている。

まず siRNA 法によりヒト腎癌細胞株 786-O、769-P の α E-カテニンをノックダウンし、MTS アッセイで細胞増殖への影響を検討したが、細胞活性の低下はわずかであった。一方、浸潤アッセイでは、浸潤能が有意に低下した。A-498 に *CTNNA1* を強制発現したところ、浸潤能が上昇する傾向がみられた。既報から浸潤遊走能への影響は EMT や YAP 経路によると想定し、ウェスタンブロッティングで検討したが、シグナルの変化は見られなかった。ccRCC のにおける E-カドヘリン、N-カドヘリンについて、TCGA、TCPA、および腎癌細胞株で解析すると、いずれにおいても E-カドヘリンの発現は少なく、N-カドヘリンの発現増加を認めた。

次に、細胞内局在について、蛍光染色を行い、共焦点顕微鏡で観察した。 α E-カテニンは、細胞間に N-カドヘリン、 β -カテニンと共局在していた。また、アクチンフィラメントがはっきりと確認された。 α E-カテニンをノックダウンすると、細胞は孤立し、細胞面積は縮小し、アクチンフィラメントは乏しくなった。EDTA で細胞接着をはがすと細胞間に局在していた α E-カテニンは細胞質内に散在し、孤立状態の細胞において、 α E-カテニンと RhoA が核周囲に局在していたが、 α E-カテニンノックダウンで RhoA が不明瞭化した。

神経系細胞において、細胞遊走時、 α E-カテニン、 β -カテニン複合体は N-カドヘリンと離れ、核周辺部に達し、p115RhoGEF と結合し、ミオシン IIB を活性化、アクチンと共にストレスファイバーを形成、細胞遊走浸潤に関与することが報告されている。我々の研究結果は、ccRCC においても、 α E-カテニンが N-カドヘリンと共に細胞接着に関与する一方、RhoA を介して細胞浸潤遊走能に寄与していることを支持していると考えられる。

令和6年 12月 19日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 末永 信太

論文題目： 腎癌において α E-カテニンは細胞遊走に関与する

審査委員：主審査委員 鹿戸 将史

副審査委員 北中 千史

副審査委員 岩井 岳夫



審査終了日： 令和6年12月19日

【 論文審査結果要旨 】

本研究は腎細胞癌の中で最も頻度の高い Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) において5番染色体長腕(5q31.2)のコピー数増加が高頻度に見られるのに対して、その生物学的意義がほとんど検討されていないことに注目。中でも、細胞間接着において重要な役割を果たしているカテニタンパク質ファミリーの1つである α E-カテニンをコードするCTNNA1遺伝子に着目して、 α E-カテニンの性質を調べたものである。申請者らはccRCCにおいて α E-カテニンがN-カドヘリンとともに細胞接着に関与する一方、ストレスファイバー形成を介して、細胞浸潤・遊走能に寄与していることを明らかにした。

審査会では、 α E-カテニンが転移と深く関わっていることは分かったが、全体として α E-カテニンの活性により、浸潤能の上昇や転移能の上昇が起こるとすると、臨床的に皆が知りたいこととして、本研究では転移症例の原発巣に対して検討しているが、転移巣での検討はあるのか？また予後に関するデータはないのかと言う質問がなされた。申請者は転移巣でのデータはないが α E-カテニンの発現が上昇しているものでは予後が良いと言うデータはあると回答。転移した症例または非転移症例にて α E-カドヘリンについて検討したかとの質問に対しては、まだしていないと回答。Invasion indexの評価では、論文タイトルでは遊走とあるが不適當ではないかとの質問に対して、浸潤能を総合的に解釈して遊走の方が適當ではないかと考えたとの回答をした。N-カドヘリンのノックダウンでの検討はなされているかとの質問に対しては、データをとっているがまだ検討中であるとの回答をした。RhoAの動きを検討したかとの質問に関しては、現在検討中であるとの回答がなされた。また、審査員から α E-カテニンが浸潤においてccRCCでは他の癌腫に比べて、逆に働くことの考察をした方が良いのではないかと意見があった。その他、カドヘリン-カテニン複合体の図の修正の要求、初出の略語は正式明瞭の記載の要求、結果のまとめではなく結語としての記載の要求、論文中の誤字の修正要求などがなされた。

今後の検討課題が多く残されているが、本発表自体は分かり易いもので適切なものであった。また申請者は全ての質問に対して、的確かつ真摯に応答していた。したがって審査員との協議の結果、上記に関して修正の上、審査合格とした。(1019文字)

(1, 200字以内)