

氏 名 ^{かこい} 梶井 ^{なりひこ} 成彦

学位の種類 博士 (医学)

学位授与年月日 平成 23 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

研究科専攻 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 腎癌転移に関わる DSGb5 糖鎖の機能解析

論文審査委員 主査 教授 荒井 陽一
教授 八重樫 伸生 教授 鈴木 貴

論文内容要旨

背景：我々の研究室では、これまでに、各種泌尿器癌の糖鎖発現と臨床像を比較検討し、癌の転移や浸潤における糖鎖の果たす役割について明らかにしてきた。その中で、腎癌の転移巣や早期に転移をきたした腎癌の原発巣において、長鎖のガングリオシドが高発現していることを明らかにした。さらに、それらガングリオシドの構造解析を行い、モノクローナル抗体を作成し、免疫組織学的な検討をおこなった結果、DSGb5 糖鎖が腎癌の転移に関わっていることを示唆するデータを得ている。しかしながら、DSGb5 糖鎖が腎癌転移のプロセスに果たす詳細なメカニズムは、十分に解明されていなかった。

目的：DSGb5 糖鎖が高発現しているヒト腎癌細胞株 ACHN を用いて、DSGb5 糖鎖の機能を解析し、腎癌転移における DSGb5 糖鎖の役割を明らかにすることを目的として本研究を施行した。

方法：DSGb5 糖鎖合成酵素遺伝子に対する siRNA を ACHN 細胞に導入して DSGb5 低発現細胞 (transfectant 細胞) を作成し、DSGb5 高発現細胞 (mock 細胞) と比較することで、腎癌細胞における DSGb5 糖鎖の機能を、細胞増殖能、運動能および細胞内シグナリング変化に着目して解析した。また、グルコース濃度の違いによって生じる、DSGb5 糖鎖が腎癌細胞へおよびす変化についても解析した。

結果：WST-8 アッセイでは、transfectant 細胞および mock 細胞の増殖能に差を認めず、増殖因子であるリン酸化 Erk1/2 の発現も同程度であった。傷付けアッセイでは、mock 細胞で高い運動能を示し、FAK、パキシリンおよび p130Cas などの接着分子のリン酸化が亢進した。一方、低グルコース濃度環境に変更すると、mock 細胞の増殖能はむしろ transfectant 細胞よりも低下し、リン酸化 Erk1/2 の発現は transfectant 細胞よりも低下を示した。また、mock 細胞の運動能は transfectant 細胞と同程度まで低下し、FAK、パキシリンおよび p130Cas などの接着分子のリン酸化も transfectant 細胞と同程度まで低下した。

考察：DSGb5 糖鎖は、腎癌細胞内において接着分子のシグナリング亢進を介して、運動能を亢進させることが明らかとなった。DSGb5 糖鎖は、腎癌細胞の運動能を亢進させることで、腎癌の高転移性に関わっていることが示唆された。

一方、DSGb5 糖鎖が関与する細胞運動・増殖および細胞内シグナリングは、グルコース濃度の低下により減弱することが判明した。低グルコース濃度によって DSGb5 糖鎖が腎癌細胞におよぼす影響が低下し、腎癌細胞の生物学的活性が低下することが示唆された。

今後は、グルコース濃度調節によって、DSGb5 糖鎖と細胞内分子との相互作用に、どのような変化が生じるかに焦点をあてた更なる解析を行うことで、腎癌転移のメカニズムの理解が進み、今までにない新しい機序からの腎癌治療の一助になるのではないかと考えられる。

審査結果の要旨

博士論文題名 腎癌転移に関わる DSGb5 糖鎖の機能解析.....

所属専攻・分野名 医科学 専攻・ 泌尿器科学 分野.....

学籍番号 氏名 梅井 成彦.....

DSGb5 糖鎖が腎癌転移のプロセスに関わるメカニズムは十分に解明されていないため、本研究では、DSGb5 糖鎖の機能を腎癌細胞の増殖能、運動能および細胞内シグナリング変化に着目して解析し、腎癌転移における DSGb5 糖鎖の果たす役割を解明した。

転移を有する進行性腎癌に対しては、外科的治療の他、免疫療法や分子標的治療などの治療が行われているが、それらの効果は限定的である。よって、腎癌の生物学的特徴、特に転移のメカニズムを明らかにする本研究は、腎癌を理解し腎癌に対する治療戦略を検討する上で大切で、その意義は大きいと思われる。

本研究では、DSGb5 糖鎖が高発現しているヒト腎癌細胞株 ACHN に DSGb5 糖鎖合成酵素遺伝子に対する siRNA を導入して DSGb5 低発現細胞（transfectant 細胞）を作成し、DSGb5 高発現細胞（mock 細胞）と比較することで、腎癌細胞における DSGb5 糖鎖の機能を、細胞増殖能、運動能および細胞内シグナリング変化に着目して解析した。また、グルコース濃度の違いによって生じる、DSGb5 糖鎖が腎癌細胞へおよぼす変化についても解析した。

増殖能アッセイでは、transfectant 細胞および mock 細胞の増殖能に差を認めず、増殖因子であるリン酸化 Erk1/2 の発現も同程度であった。運動能アッセイでは、mock 細胞で高い運動能を示し、FAK、パキシリンおよび p130Cas などの接着分子のリン酸化が亢進を示した。一方、低グルコース濃度環境に変更すると、mock 細胞の増殖能はむしろ transfectant 細胞よりも低下し、リン酸化 Erk1/2 の発現は transfectant 細胞よりも低下を示した。また、mock 細胞の運動能は transfectant 細胞と同程度まで低下し、FAK、パキシリンおよび p130Cas などの接着分子のリン酸化も transfectant 細胞と同程度まで低下した。

以上より、DSGb5 糖鎖は、腎癌細胞内において接着分子のシグナリング亢進を介して、運動能を亢進させることが明らかとなり、DSGb5 糖鎖は腎癌細胞の運動能を亢進させることで、腎癌の高転移性に関わっていることが示唆されると考察した。また、DSGb5 糖鎖が関与する細胞運動能、増殖能および細胞内シグナリングは、グルコース濃度の低下により減弱することが判明し、低グルコース濃度によって DSGb5 糖鎖が腎癌細胞におよぼす影響が低下し、腎癌細胞の生物学的活性が低下することが示唆されるといった、新しい概念を提唱している。

克服すべき課題はあるが、本論文により、腎癌転移のメカニズムの理解が進み、今までにない新しい機序からの腎癌治療の一助になるのではないかと考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文に十分に値する研究論文であり、合格と認める。