

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	山崎 浩司
<p>[論文題名]</p> <p>Dysregulated HAI-2 Plays an Important Role in Renal Cell Carcinoma Bone Metastasis through Ligand-Dependent MET Phosphorylation</p> <p>HAI-2 の制御不全はリガンド依存的な MET のリン酸化を介し腎細胞癌の骨転移において重要な役割を果たす</p> <p>Cancers (Basel) 2018, 10, doi:10.3390/cancers10060190</p> <p>[要 旨]</p> <p>【背景】</p> <p>進行腎細胞癌の治療は分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬の登場により生命予後が延長された。しかし Complete response (CR) に至る症例は稀である。また、進行腎細胞癌の約 30%は骨転移を伴い、病的骨折や疼痛などの骨関連事象 (SRE) による QOL 低下が問題となっている。また、骨転移病変は分子標的薬に対する治療抵抗性を示すことがあり治療に難渋することがある。その原因として骨環境における様々な増殖因子とその活性化因子が関与していると考えられている。</p> <p>過去に我々は患者検体を用いた研究で腎細胞癌原発巣に比べ骨転移組織において MET 及び matriptase の発現が亢進しているとともに、MET の高発現が予後不良因子であることを報告している。MET の高発現は多くの癌で予後不良因子であることが知られており、matriptase は MET のリガンドである Hepatocyte Growth Factor (HGF) の活性化因子である。また、matriptase の活性化は HGF activator inhibitors (HAIs) によって制御されている。以上のことから腎細胞癌の骨転移形成には MET のリン酸化及びその調節因子 (HGF、matriptase、HAIs) が関わっていることが示唆される。</p> <p>本研究では腎細胞癌の骨転移組織における matriptase 及びその制御因子である HGF activator inhibitor type 2 (HAI-2) の役割を解明するため、腎癌骨転移モデルマウスを作製し、骨転移組織における各分子の発現を解析するとともに、HAI-2 ノックダウン細胞株を用いた In vitro 実験を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>腎癌骨転移モデルマウスを作成するためヌードマウスの左心室にルシフェラーゼで標識した腎癌細胞 (786-0) を心注し、IVIS (蛍光イメージング) を用いて骨転移の形成を確認し</p>			

た。骨転移組織を用いて RT-qPCR、免疫ブロット、免疫組織染色による各分子の発現解析を行った。コントロールとして皮下移植片を用いた。また、786-0 を用いて HAI-2 Knockdown および強制発現を行い、各分子の発現変化および細胞機能の変化を解析した。

【結果】

RT-qPCR では骨転移組織において HGF および matriptase の mRNA 発現が亢進し、HAI-2 の mRNA 発現は低下していた。免疫組織染色では骨転移組織において MET のリン酸化が亢進していた。これらの結果から骨転移組織においてリガンド依存的な MET のリン酸化が重要な役割を果たしていることが示唆された。In vitro 実験では HAI-2 の Knockdown により matriptase の発現が亢進する一方で、強制発現により matriptase の発現は低下した。HAI-2 を Knockdown した細胞では創傷治癒 Assay における遊走能が亢進するとともに、Matrigel を用いた浸潤 Assay で浸潤能が亢進していた。浸潤能は HGF 前駆体を添加することでさらに亢進しており、リガンド依存的な MET のリン酸化の関与が示唆された。次いで RT² profiler PCR array system を用いて転移に関連する 84 分子の発現を解析したところ、HAI-2 の Knockdown により CCL7 および CXCR4 の発現が亢進するとともに、強制発現により CXCR4 および MMP9 の発現は低下していた。

【考察】

MET の活性化にはリガンド (HGF) 依存的な経路とリガンド非依存的な経路 (過剰発現や活性化変異) が知られており、本研究ではコントロールに比べ骨転移組織で HAI-2 の発現が低下し、matriptase および HGF の発現が亢進することで MET のリン酸化が亢進していた。このことから、腎癌の骨転移組織ではリガンド依存的な経路が重要な役割を果たしていることが示唆された。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度