

論 文 要 旨

氏 名	水田 奏
タイトル (日英併記)	Plectin promotes tumor formation by B16 mouse melanoma cells via regulation of Rous sarcoma oncogene activity (plectin は Src の活性制御を介してマウス悪性黒色腫細胞株 B16 の腫瘍形成を促進する)
論文の要旨	
<p>悪性黒色腫は皮膚や粘膜に発症する悪性腫瘍で、腫瘍細胞の増殖は速く、口腔粘膜原発のものでは5年生存率が20%以下である。治療は安全域を大きく設定した切除と術後療法が併用されることから、患者のQOLが大きく低下する。したがって、悪性黒色腫のさらなる理解と新たな治療法の確立が必要である。</p> <p>がん遺伝子 Src の活性化は細胞の増殖や接着を制御し、悪性黒色腫を含む様々ながん細胞の浸潤や転移を促進する。一方、細胞骨格タンパク質の plectin もまた悪性黒色腫を含む多くのがん細胞で発現が高い。これまでわれわれは、この plectin が、破骨細胞において Src の活性を調節することを報告してきた。そこで本研究では、悪性黒色腫における Src の活性化や腫瘍形成における plectin の機能を検討した。</p> <p>まず、CRISPR/Cas9 システムを用いて、plectin 遺伝子が欠損したマウス悪性黒色腫細胞株 B16 (PKO) を作製した。PKO 細胞において Src の活性化を示す p-Pyk2 の発現量が減少した。次に、8週齢のヌードマウスの背部皮下に PKO 細胞を接種した。PKO 細胞由来の形成した腫瘍では、密度が減少し細胞間隙が疎であった。In vitro において、細胞増殖を WST-8 法、Cell viability 法および qPCR 法で検討した。PKO 細胞では野生型に比べ、経時的な生細胞数の増加が低下し、また細胞増殖マーカーである CyclinD1 の発現量も減少した。細胞接着は、Cell adhesion 法、スフェロイド形成および Dispase-based dissociation 法で検討した。PKO 細胞は細胞外基質タンパク質のフィブロネクチンに対して接着した細胞数が減少した。また PKO 細胞は疎で大きなスフェロイドを形成した。さらに接着タンパク質を分解する Dispase 処理後の機械的刺激によって、PKO 細胞はより多数の細胞塊に分断された。最後に PKO 細胞に対して Src シグナル活性化によるレスキュー実験をおこなった。その結果、活性型 Src を過剰発現させた PKO 細胞は、細胞増殖および細胞接着が回復した。</p> <p>以上より、plectin は悪性黒色腫細胞における Src シグナルの活性化を支持して、細胞増殖および細胞接着を促進することが明らかとなった。</p>	