

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1160 号	氏 名	山ノ井 万里子
論文審査担当者	主 査 石塚 修 副 査 小泉 知展・伊藤 研一		

(論文審査の結果の要旨)

アネキシンの一部のサブタイプでは、胃癌や肝細胞癌等の癌細胞で発現が増強し、その発現は悪性度と相関があると言われている。前立腺癌、肝細胞癌、乳癌、肺癌ではアネキシン A1 は、血管内皮細胞で高発現する。しかし VEGF 等の血管増生因子の発現が高い特徴を持つ腎細胞癌との関係は、十分には分かっていない。今回、腎細胞癌においてアネキシン A1 発現は、悪性度と相関するか、調べた。

1. 根治的腎摘除術を施行された 27 例の腎細胞癌標本を用いアネキシン A1 抗体で免疫染色を行った。一部の症例では癌細胞の膜が非癌部のコントロールより濃く染色され、このような症例をアネキシン A1 陽性と判断した。
2. 染色結果と臨床病理学的因子である、年齢、性別、病期、Fahren 分類、組織学的分類、静脈侵襲との相関を検討したが、陽性例と陰性例の間に有意差は認めなかった。
3. 次に、予後との相関を検討した。27 例のうち 26 例において予後が追跡できた。Log-rank 解析にて無病再発生存期間を検討すると、アネキシン A1 陽性例は、陰性例に比べて、有意に無病再発生存期間が短く、腎細胞癌におけるアネキシン A1 高発現は、予後不良因子であることが明らかになった。
4. アネキシン A1 が、癌細胞の機能にどのような影響を与えているか詳しく調べるため、アネキシン A1 に特異的な shRNA を発現するレトロウイルスベクターを用いて、ヒト腎癌細胞株 Caki-1 でアネキシン A1 の発現を抑制し、細胞に与える影響を検討した。
5. Quantitative Real TimePCR と Western blotting の結果、アネキシン A1shRNA を発現させた細胞では、コントロールと比較して、アネキシン A1mRNA、タンパク質共に発現が有意に低下した。
6. In vitro で Caki-1 細胞においてアネキシン A1 の発現抑制が細胞増殖に与える効果を MTS assay により調べたところ、アネキシン A1 をノックダウンした細胞の増殖は、コントロールに比べ有意に低下した。
7. Matrigel invasion assay、Scratch assay、In vitro cell adhesion assay を用いた解析より、アネキシン A1 をノックダウンすると細胞の浸潤能、運動能、接着能の、有意な減弱が見られた。
8. アネキシン A1 をノックダウンすると、細胞の運動・浸潤に関与する MT1-MMP の発現が低下し、この転写制御因子である HIF1 α の発現も低下した。

以上より、腎細胞癌において、アネキシン A1 は癌細胞の増殖、浸潤、運動及び接着能の亢進に関わっている事が示された。また、腎細胞癌の細胞膜にアネキシン A1 が高発現していると、予後が不良であることが明らかになった。

主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。