

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	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
論文題目	Annexin A1 expression is correlated with malignant potential of renal cell carcinoma (腎細胞癌におけるアネキシン A1 発現は、悪性度と相関する)
(論文の内容の要旨)	<p>〔背景〕腎細胞癌は近年、その罹患率が上昇しつつある。切除数年後に他臓器に再発・転移を起こす症例や、急速に癌が進行する悪性度の高い症例があることも知られている。そのため、腎細胞癌切除後の予後予測のためにバイオマーカーを同定することは、腎細胞癌の予後予測並びに新たな治療標的の開発に必要不可欠である。アネキシンはカルシウムおよびリン脂質に結合するタンパク質ファミリーであり、アネキシン A1 は、細胞増殖や遊走を引き起こすホスホリパーゼ A2 の働きを阻害する、分子量 40kDa 程度のタンパク質である。ヒトの胃癌や肝癌においてアネキシン A1 は過剰に発現しており、アネキシン A1 の過剰発現は悪性度と相関があることが知られている。しかしながらヒト腎癌においてアネキシン A1 がどのような働きをしているかは完全には解明されていない。本研究では、ヒト腎細胞癌におけるアネキシン A1 の発現と、患者の無再発生存期間との関連を評価した。また、ヒト淡明細胞型腎がん細胞株を用いて、アネキシン A1 の発現が腎細胞癌の増殖、浸潤、運動および接着能と関連するか否かを評価した。</p> <p>〔目的〕腎細胞癌におけるアネキシン A1 (Anxa1) の発現と、癌の悪性度の関連について免疫組織化学的に検討した。また、ヒト淡明細胞型腎がん細胞株 (Caki-1) を用いて、Anxa1 の発現が腎細胞癌の増殖、浸潤、運動および接着能と関連するか否かを細胞生物学的に評価した。</p> <p>〔方法〕根治的腎摘除術を施行された腎細胞癌の切除症例 27 例の標本を用いて、抗 Anxa1 抗体を用いた免疫染色により、Anxa1 の発現を検討した。また、無再発生存期間はログランク検定を用いて解析した。</p> <p>さらにヒト淡明細胞型腎細胞癌由来の培養細胞株 Caki-1 を用いて、レトロウイルスベクターにより Anxa1 の shRNA を恒常的に発現させて Anxa1 の発現を抑制し、細胞の増殖能、浸潤能、運動能および接着能に及ぼす影響をそれぞれ MTS アッセイ、マトリゲル浸潤アッセイ、スクラッチアッセイ、接着アッセイにより解析した。さらに、real-time PCR 法並びにウエスタンブロットティング法により、種々の MMP と HIF1<math>\alpha</math> の発現量について解析した。</p> <p>〔結果〕腎細胞癌 27 例のうち 13 例において、Anxa1 は腎癌細胞の細胞膜に高発現しており、残り 14 例でその発現は減弱していた。さらに、臨床病理学的因子や予後との相関を検討した結果、Anxa1 が腎癌細胞の細胞膜において高発現した 13 例では、無再発生存期間は有意に短かった (<math>P &lt; 0.05</math>)。ヒト淡明細胞型腎細胞癌由来の培養細胞株 Caki-1 において Anxa1 のノックダウンを行い、種々のがん形質について解析を行った。その結果、細胞増殖能は、コントロール細胞に比べ有意に低下した。次にマトリゲル浸潤アッセイを行ったところ、Anxa1 ノックダウンにより、浸潤能が有意に低下した。また細胞の運動能をスクラッチアッセイにより解析した結果、細胞の運動能は、Anxa1 をノックダウンした細胞で 14 時間までの観察において有意に減弱した。さらに、種々の細胞外基質への接着能について解析を行ったところ、I 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニン、FBS (ビトロネクチンの代用) に対する接着能が、Anxa1 ノックダウンにより、有意に低下した。この分子機構について詳細に解析したところ、Anxa1 ノックダウン細胞では、MT1-MMP mRNA の発現量が有意に低下しており、その制御因子の一つである HIF-1<math>\alpha</math> の発現量が、mRNA およびタンパク質ともに低下していた。</p> <p>〔結論〕腎細胞癌において、Anxa1 は癌細胞の増殖、浸潤、運動および接着能の亢進に関わっていることが示された。従って、腎細胞癌の細胞膜に Anxa1 が高発現していると、予後が不良である可能性が高いことが示唆された。</p>