

論文内容の要旨

MRTF によるアクチン細胞骨格制御を介した悪性黒色腫細胞の細胞運動抑制効果に関する
検討

(岸 隆行)

(岩手医学雑誌 66 巻, 1 号 平成 26 年 4 月掲載 (予定))

I. 研究目的

癌が生命を脅かし治療を困難にする大きな要因は、癌細胞の浸潤・転移である。これらの過程には癌細胞の運動能、接着能、さらには細胞外マトリクス分解能といった細胞機能の変化が関与している。細胞骨格は細胞機能の動的構造基盤として重要であり、中でもアクチン細胞骨格は細胞形態および運動能に中心的役割を果たしている。その構成タンパク質の発現調節は細胞機能変化と密接に関連している。myocardin-related transcription factor (MRTF) は転写因子 serum response factor (SRF) と協調的にアクチン細胞骨格関連遺伝子群の発現を制御する転写調節因子として機能する。我々はこれまでに MRTF がアクチン細胞骨格/接着斑構成タンパク質の発現制御を介してアクチン細胞骨格の再編成を起し、それによって癌形質が抑制されることを明らかにしてきた。

一方、MRTF-SRF 活性が細胞遊走・浸潤および転移能に及ぼす影響について詳細な分子機構は現在のところ明らかでない。

本研究ではマウス悪性黒色腫由来 B16F10 細胞に活性型 MRTF-A 遺伝子導入を行い、MRTF-SRF 経路を介したアクチン細胞骨格/接着斑構成タンパク質の発現亢進による細胞形態、運動能および接着能の変化について解析・検討を行った。

II. 研究対象ならび方法

マウス悪性黒色腫由来 B16F10 細胞を解析に用いた。この細胞に活性型 MRTF-A 発現ベクターを遺伝子導入し、アクチン細胞骨格/細胞接着関連遺伝子の発現変化を mRNA およびタンパク質レベルで解析した。細胞形態の変化については免疫染色法で解析した。また、活性型 MRTF-A 恒常性発現細胞を樹立し、細胞運動能および接着能の変化の解析に用いた。細胞運動能の変化については、In Cell Analyzer を用いて経時的な細胞運動を観察し、取得画像から移動速度を算出した。細胞接着能の変化については、細胞接着アッセイで単位時間における接着細胞数を計測した。

III. 研究結果

1. 活性型 MRTF-A 遺伝子導入により、SRF 標的遺伝子であるアクチン細胞骨格/細胞接着関連遺伝子の mRNA レベルの発現増加を認めた。また、タンパク質レベルでも同様に発現増加を認めた。
2. 活性型 MRTF-A 遺伝子導入により、細胞は扁平に伸展した形態に変化した。著明なアクチン細胞骨格の再編成が起これ、太いストレスファイバーが形成され、細胞辺縁のストレ

スファイバー基部では大型の接着斑の形成が認められた。

3. 活性型 MRTF-A 恒常性発現細胞では対照 B16F10 細胞に比して、移動速度は約 60%抑制された ($p < 0.01$)。

4. 活性型 MRTF-A 恒常性発現細胞では対照 B16F10 細胞に比して、単位時間における接着細胞数は約 2~3 倍に増加した ($p < 0.01$)。

IV. 結 語

MRTF-SRF 経路の活性化によって多くのアクチン細胞骨格/接着斑構成タンパク質の発現が増加し、著明なアクチン細胞骨格の再編成を伴う細胞形態の変化が生じた。これらの変化と共に細胞運動能の抑制が認められた。高い遊走能と関連する細胞辺縁部のラメリポディアが消失し、太いストレスファイバーの形成および接着斑の大型化と再配置によって伸展した形態へと変化した。接着構造の変化が顕著な細胞接着能の亢進を引き起こすことが確認され、細胞運動能抑制の構造的基盤として寄与している可能性が強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐藤洋一 (医学教育学講座)

副査 教授 赤坂俊英 (皮膚科学講座)

副査 准教授 久保田美子 (生化学講座：分子医化学分野)

細胞骨格の一つを構成するアクチンフィラメントは、細胞の形の変化と維持に関与し、アクチン分子の重合と脱重合は細胞の移動において重要な役割を果たしている。本実験は、アクチン細胞骨格関連遺伝子群を制御する転写調節因子である myocardin-related transcription factor (MRTF) が、細胞の形態変化と移動能にどのような関与があるかを、悪性黒色腫由来の細胞株を用いて多方面の実験手段によって検証したものである。その結果、MRTF が活性化されると、接着斑は大型化し、ストレスファイバーも明瞭となった。これは細胞の接着能が亢進したことを意味しており、移動能の抑制も実証された。本論文は、ガン細胞の浸潤転移の機転でアクチンフィラメントの動態を制御する MRTF の意義について新たな知見を示した研究であり、学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

アクチンフィラメントと細胞移動能の関係を理解し、更に細胞外基質との相関についても深い考察を加えて、将来の研究の発展性も示した。学位に価する学識と資質を有すると判断した。

参考論文

- 1) 皮膚原発性 MALT リンパ腫の 1 例
(岸 隆行, 他 4 名と共著)
臨床皮膚科, 65 巻, 6 号 (2011) : p432-436.
- 2) 蜂刺によるアナフィラキシーショックから左鎖骨下動脈狭窄症が発見された 1 例
(岸 隆行, 他 4 名と共著)
臨床皮膚科, 65 巻, 10 号 (2011) : p759-762
- 3) 基底細胞母斑症候群の 1 例
(岸 隆行, 他 3 名と共著)
皮膚科の臨床, 54 巻, 1 号 (2012) : p139-142