

令和 2年 12月

石川瑞穂 学位論文審査要旨

主 査 久 郷 裕 之

副主査 梅 北 善 久

同 岡 田 太

主論文

Correlation of two distinct metastasis-associated proteins, MTA1 and S100A4, in angiogenesis for promoting tumor growth

(腫瘍増殖を促進する血管新生における2つの転移関連タンパク質MTA1とS100A4の相関)

(著者：石川瑞穂、尾崎充彦、山岸 誠、小沼邦重、井藤久雄、岡田 太、遠藤英也)

令和元年 Oncogene 38巻 4715頁～4728頁

参考論文

1. Bisphosphonate-induced reactive oxygen species inhibit proliferation and migration of oral fibroblasts: A pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw

(ビスフォスフォネートが誘導する活性酸素は口腔線維芽細胞の増殖と遊走を阻害する：ビスフォスフォネート関連顎骨壊死の病因)

(著者：谷口奈緒美、尾崎充彦、小沼邦重、石川瑞穂、領家和男、小谷 勇、岡田 太)

令和2年 Journal of Periodontology 91巻 947頁～955頁

2. Splice variants of lysosome-associated membrane proteins 2A and 2B are involved in sunitinib resistance in human renal cell carcinoma cells

(リソソーム関連膜タンパク質のスプライスバリエーションである2Aと2Bはヒト腎細胞癌細胞のスニチニブ抵抗性に関与する)

(著者：西川涼馬、尾崎充彦、佐々木 諒、石川瑞穂、弓岡徹也、山口徳也、岩本秀人、本田正史、株田智弘、武中 篤、岡田 太)

令和2年 Oncology Reports DOI: 10.3892/or.2020.7752

学 位 論 文 要 旨

Correlation of two distinct metastasis-associated proteins, MTA1 and S100A4, in angiogenesis for promoting tumor growth

(腫瘍増殖を促進する血管新生における2つの転移関連タンパク質MTA1とS100A4の相関)

腫瘍血管新生は、癌細胞の生存や増殖に必須であり、原発巣や転移巣形成にも関わる重要な過程である。現在、様々な分子を標的とした血管新生阻害剤が臨床応用されているが、その効果は十分ではない。そこで癌細胞の増殖や転移に関与し、近年血管新生との関連が報告されているMetastasis-associated protein 1 (MTA1)に着目した。一方、S100 calcium-binding protein A4 (S100A4)は既報から、癌細胞の転移や増殖への関与が知られている。このMTA1とS100A4は、腫瘍細胞において増殖や転移に関わるという共通点がありながら、同定されて以来独立して研究がなされてきた。そこで本研究では血管新生という観点から両者の関係性に迫ろうと考えた。

方 法

MTA1 small interfering RNA (siRNA)を導入した血管内皮細胞(MSS31細胞)を用いてin vitroで管腔形成能を評価するtube formation assayを行い、MTA1の血管構造の形成に対する関与を検討した。さらに、directed in vivo angiogenesis assay (DIVAA)を用いて生体内におけるMTA1の血管形成への関与を検証した。MTA1発現抑制による管腔形成阻害の分子機構を明らかにするため、MTA1 siRNAを導入した血管内皮細胞におけるS100A4発現量及びnon-muscle myosin heavy chain IIa(NMIIa)のリン酸化の変化をウエスタンブロットにて検討した。MTA1とS100A4の相互作用を明らかにする目的で両分子の細胞内局在を免疫蛍光染色で確認した後、複合体形成の有無を共免疫沈降法で検討した。MTA1ノックダウンによるS100A4の安定性への影響をシクロヘキシミドによるタンパク合成阻害実験にて検証した。さらに、ヌードマウスの皮下にヒト膵癌細胞株(PANC-1細胞)を移植したxenograftモデルを作製し、MTA1 siRNAの腫瘍内投与による血管新生阻害を介した腫瘍増殖の抑制効果を検討した。

結 果

MTA1 siRNA導入血管内皮細胞を用いたtube formation assayにおける管腔形成の評価及

びDIVAAにおける血管形成の評価を行った結果、MTA1発現抑制により阻害されることをin vitro及びin vivoで確認した。MTA1発現抑制時のMTA1とS100A4分子の発現及び相互作用は、血管内皮細胞の細胞質においてMTA1と複合体を形成することで保たれるS100A4の安定性がMTA1発現を抑制することで低下し、その結果として減少するS100A4の下流分子NMIIaのリン酸化が亢進して管腔形成が阻害されることを明らかにした。また、ヒト膵癌細胞株PANC-1細胞を皮下移植したxenograftモデルでは、MTA1 siRNAの腫瘍内投与により腫瘍が退縮することを観察した。腫瘍内血管数を組織学的に評価したところ、MTA1 siRNA投与群において有意に低値を示した。

考 察

MTA1発現抑制による血管形成阻害効果がin vitro及びin vivoで確認され、血管内皮細胞に発現するMTA1の血管形成における重要性が強く示唆された。生体内における血管形成には、血管内皮細胞が増殖及び遊走する過程と、管状構造を形成する過程の2つの過程を経て、血管を伸長させる事が知られている。MTA1発現を抑制しても増殖や遊走に対する影響が乏しかったことから、MTA1は主として後者の過程に関与していると考えられた。MTA1発現抑制による管腔形成能低下の分子機構は、MTA1発現抑制によりS100A4量が減少し、それに伴いNMIIaのリン酸化が亢進した結果と考えられた。XenograftモデルではMTA1 siRNA投与により腫瘍血管数が減少することを明らかにした。MTA1 siRNA投与群では腫瘍辺縁部に新生血管が多数存在する一方で、中心部には少なかったことからMTA1発現抑制により腫瘍中心部への血管の延伸が阻害され、腫瘍退縮を起こしたものと考えられた。

結 論

血管内皮細胞に発現するMTA1の機能として血管形成への関与を明らかにし、その分子機構はS100A4を介した細胞骨格への関与によるものであることを明らかにした。また、MTA1は血管新生過程のうち、特に管状構造の形成に関与していると考えられることから、形成阻害の新規候補分子になる可能性があり、新たな作用機序による血管新生阻害剤の開発に繋がると考えられる。