

論 文 内 容 要 旨

題目 Up-regulation of Plakophilin-2 and Down-regulation of Plakophilin-3 are Correlated With Invasiveness in Bladder Cancer

(Plakophilin-2 の上昇と Plakophilin-3 の低下は膀胱癌の浸潤に相関する)

著者 Hisaya Takahashi, Hiroyoshi Nakatsuji, Masayuki Takahashi, Shiirevnyamba Avirmed, Tomoya Fukawa, Masahiko Takemura, Tomoharu Fukumori, and Hiroomi Kanayama

平成 24 年 1 月発行 Urology 第 79 巻第 1 号

240. e1 ページから 240. e8 ページに発表済

内容要旨

従来より申請者らは癌の浸潤転移と細胞接着の観点からの研究を行っており、細胞接着装置タイトジャンクションの裏打ち蛋白質である、アクチニン-4 について膀胱癌浸潤における役割について検討を行い、膀胱癌が浸潤能を獲得する上で、アクチニン-4 が細胞膜にリクルートされず、タイトジャンクションの形成がなされないことで細胞接着が脆弱となること、また細胞膜にリクルートされなかったアクチニン-4 が線維芽細胞様に遊走することに関わっていることを明らかにしている。

今回我々は、別の細胞接着装置である desmosome の裏打ち蛋白質であり、他の癌種においても癌浸潤、転移との関連が報告されているプラコフィリン-2 とプラコフィリン-3 に着目した。desmosome は上皮系組織や心筋などに発現する主要な細胞接着装置の 1 つであり、膜貫通型蛋白質のデスモグレイン、デスモコリンが隣接する細胞どうしを接着させるとともに、細胞内ではプラコグロビンやプラコフィリンなどアルマジロファミリーに属する蛋白質が、膜貫通型蛋白質と中間系フィラメントとを架橋することで組織の形態を安定化させるはたらきを持っている。プラコフィリン-2 は desmosome assembly において重要な分子であり、また心臓の必須の形態形成因子、構成成分でもある。プラコフィリン-2 欠損マウス胎児では、心臓形態形成維持に特異的な支障をきたし、経過中に心臓破裂、血液漏出を認め、胎児死亡することが報告されている。プラコフィリン-3 は desmosome-dependent な接着と signaling pathways の二つの役割を有していると考えられている。そこで我々は、膀胱癌浸潤における、これら分子の分子機構について、解明を試みた。

## 様式(8)

まず複数の膀胱癌細胞株を用い、プラコフィリン-2 とプラコフィリン-3 の発現量をリアルタイム PCR とウエスタンブロット法にて、m-RNA レベル、タンパク質レベルで比較検討した結果、浸潤能の高い膀胱癌細胞株でプラコフィリン-2 は高発現し、プラコフィリン-3 は低発現していることが分かった。次に免疫染色法を用い、膀胱癌細胞株におけるプラコフィリン-2 とプラコフィリン-3 の局在について検討した結果、正常膀胱細胞株や浸潤能の低い膀胱癌細胞株では、プラコフィリン-2 とプラコフィリン-3 は細胞膜で E-カドヘリンと共局在していたが、浸潤能の高い膀胱癌細胞株では、細胞膜で E-カドヘリンと共局在していなかった。また組織による検討では、正常組織、表在性膀胱癌組織ではプラコフィリン-2 とプラコフィリン-3 は細胞膜に主に局在していたが、浸潤性膀胱癌組織ではそれらの分子は細胞質に局在していた。さらに、表在性膀胱癌組織において、それら分子が細胞膜に局在していない群で、再発が多い傾向にあった。プラコフィリン-2 が高発現していた J82 細胞株を、siRNA を用いプラコフィリン-2 をノックダウンしたところ、浸潤能が抑制された。一方、プラコフィリン-3 が高発現していた 5637 細胞株を、siRNA を用いプラコフィリン-3 をノックダウンしたところ、浸潤能が増強された。

これらの結果よりプラコフィリン-2 が高発現すること、及びプラコフィリン-2 が細胞膜に局在しないことは、膀胱癌の増殖には関係しないが、浸潤能の亢進に関係することが明らかになった。この原因としてプラコフィリン-2 は、膀胱癌において細胞接着の脆弱化と Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) に関与している可能性があると考えている。対照的にプラコフィリン-3 の発現が低下すること、及びプラコフィリン-3 が細胞膜に局在しないことは、膀胱癌の増殖には関係しないが、浸潤能の亢進に関係することが明らかになった。この原因としてプラコフィリン-3 は、膀胱癌において細胞接着の強固化、Mesenchymal-Epithelial Transition (MET) に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1205号	氏名	高橋 久弥
審査委員	主査 泉 啓介 副査 丹黒 章 副査 島田光生		

題目 Up-regulation of Plakophilin-2 and Down-regulation of Plakophilin-3 are Correlated With Invasiveness in Bladder Cancer  
(Plakophilin-2 の上昇と Plakophilin-3 の低下は膀胱癌の浸潤に相関する)

著者 Hisaya Takahashi, Hiroyoshi Nakatsuji, Masayuki Takahashi, Shiirevnyamba Avirmed, Tomoya Fukawa, Masahiko Takemura, Tomoharu Fukumori, and Hiroomi Kanayama  
平成 24 年 1 月発行 UROLOGY 第 79 巻第 1 号  
240.e1 ページから 240.e8 ページに発表済  
(主任教授 金山博臣)

要旨 これまでに申請者らは癌の浸潤・転移と細胞接着の観点からタイトジャンクションの裏打ち蛋白質であるアクチニン-4 について膀胱癌浸潤における役割を検討してきた。  
今回、申請者は、別の細胞接着装置であるデスモゾームの裏打ち蛋白質である plakophilin、特に他の癌腫においても癌の浸潤、転移との関連が報告されている plakophilin-2 (PKP-2) と plakophilin-3 (PKP-3) に着目した。膀胱癌浸潤における plakophilin の分子機構を解明するために、浸潤能の異なる膀胱癌培養細胞、および摘出組織を用いて、real-time PCR による遺伝子発現レベル、ウェスタンブロット法および免疫組織化学による蛋白発現レベルおよび局在、さらに浸潤能との関係について検討を行った。得られた結果は以下の通りである。

- 1) 正常膀胱細胞株 (HUC) と浸潤能の低い膀胱癌細胞株 (5637) では PKP-2 の発現は低く、PKP-3 の発現は高かった。一方、浸潤能の高い膀胱癌細胞株 (J82) では PKP-2 の発現は高く、PKP-3 の発現は低かった。
- 2) HUC と 5637 では PKP-2 と PKP-3 は細胞膜で E-カドヘリンと共局在していたが、J82 では、細胞膜で E-カドヘリンとの共局在は認められなかった。
- 3) 摘出組織を用いた検討では、正常組織および表在性膀胱癌組織では PKP-2 と PKP-3 は主に細胞膜に局在していた。一方、浸潤性膀胱癌組織ではこれらは主に細胞質に局在していた。
- 4) PKP-2 が高発現している J82 細胞株において siRNA を用いて PKP-2 をノックダウンしたところ浸潤能が抑制され、PKP-3 が高発現している 5637 細胞株において siRNA を用いて PKP-3 をノックダウンしたところ、浸潤能が増強された。

以上の結果から、PKP-2 は浸潤の亢進に、PKP-3 は浸潤の抑制に関与していること、PKP-2、PKP-3 が細胞膜に局在せず細胞接着が脆弱となることで膀胱癌が浸潤能を獲得していることが示唆された。本研究は膀胱癌の浸潤・転移機構の解明における新たな展開に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。