



Title	Correlation between E-cadherin Expression and Invasiveness in vitro in a Human Esophageal Cancer Cell Line
Author(s)	土岐, 祐一郎
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38759
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 土 岐 祐 一 郎

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 0 0 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 12 月 15 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Correlation between E-cadherin Expression and Invasiveness in vitro in a Human Esophageal Cancer Cell Line
(ヒト食道癌細胞株の実験的浸潤モデルにおける E 型カドヘリンの関与について)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 森 武 貞

(副査)
教 授 青 笹 克 之 教 授 祖 父 江 憲 治

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

癌の浸潤、転移の第一段階は癌細胞の原発巣からの離脱であり、その際には正常組織で機能している細胞間接着は障害されているものと考えられる。カドヘリンは Ca^{2+} 依存性の膜貫通型の細胞間接着因子であり、その接着能は他の細胞間接着因子（インテグリンファミリー、IgG スーパーファミリー他）よりはるかに強い。正常上皮組織はサブクラスの一つである E 型カドヘリン（ECD）を主として発現する。我々はこれまでに、種々の癌組織において ECD の発現の減弱を認め、さらに ECD の減弱と癌の組織学的分化度、浸潤様式、リンパ節転移との密接な関係を報告してきた。本研究では、ヒト食道癌細胞株を用いて ECD の発現と細胞間接着能との関係を明らかにし、さらに新しい実験浸潤モデル（organotypic raft culture）における ECD の役割を詳細に検討した。

【方法ならびに結果】

ヒト食道扁平上皮癌細胞株 TE-2 は、抗ヒト E 型カドヘリンモノクローナル抗体（HECD-1）を用いた免疫組織染色で不均一に ECD を発現していた。限界希釈法にて10の subline を得たが、このうち6 line は western blotting で同量の ECD を発現するのに対し、残りの4 line は全く ECD を発現していなかった。それぞれより任意に ECD（+）-1、ECD（-）-2 を選び、以下の比較実験を行った。

ECD（+）-1 は円形もしくは方形の細胞で敷石状の凝集したコロニーを作るのに対し、ECD（-）-2 は紡錘形の細胞で分散したコロニーを形成した。ECD（+）-1 は、免疫蛍光染色で細胞間の境界に鮮明に ECD の集積を認めた。ECD（-）-2 は、蛍光染色、western blotting、flowcytometry のいずれにても ECD の発現を認めなかった。また、ECD（+）-1 は P 型カドヘリンを痕跡量発現していたが、ECD（-）-2 は発現していなかった。また、両方とも flowcytometry にてほぼ同量のラミニンレセプターとファイブロネクチンレセプターを発現していた。

カドヘリンが機能するためには細胞内で α -catenin と結合することが必須である。Western blotting にて ECD（+）-1 は α -catenin をよく発現しているのに対し、ECD（-）-2 は痕跡程度認めるのみであった。また、カドヘリンは最終的に actin filament との連動により機能を抑制されている。ローダミンファロイジンにて蛍光染色する

と、ECD (+)-1 では actin filament の分布は ECD と一致して細胞間に認められたのに対し、ECD (-)-2 では細胞内にびまん性に認められた。

In vitro の細胞間接着能は、単離細胞の旋回培養による集合実験と micropore-membrance の通り抜けによる分散実験で評価した。集合実験において Ca^{2+} free では両者とも細胞凝集を認めなかったが、 $\text{Ca}^{2+}=0.3\text{mM}$ では ECD (+)-1 は強い凝集を示したのに対し、ECD (-)-2 は凝集を示さなかった。ECD (+)-1 の凝集は抗 E 型カドヘリン抗体 (HECD-1) にて阻害された。細胞分散実験において、ECD (-)-2 は ECD (+)-1 より強い細胞分散傾向を示した。さらに HECD-1 により ECD(+)-1 の分散は dose dependent に増えるのに対し、ECD(-)-2 は全く影響を受けなかった。

Organotypic raft culture はコラーゲンをういた線維芽細胞と扁平上皮細胞の co-culture system で、皮膚の再構成モデルとしてこれまで主に分化や paracrine の研究に用いられてきた。今回、in vivo に近い浸潤モデルとしてこれをういた。ECD (+)-1 はコラーゲンゲル上に重層化しゲルの中への浸潤は認めなかったが、ECD (-)-2 ではゲルの中への浸潤細胞を多数認めた。HECD-1 を培地に添加すると、ECD (-)-2 では特に変化は認めなかったが、ECD (+)-1 では重層化した細胞の離開を認めるとともに、コラーゲンゲルの中に多数の細胞が浸潤を示した。

【総括】

ヒト食道扁平上皮癌細胞株から E 型カドヘリン発現量の異なる亜株を得た。この株において E 型カドヘリンは主たる細胞間接着因子であり、その消失または機能抑制により細胞の浸潤性は著しく亢進することが確認された。

論文審査の結果の要旨

本研究はヒト食道癌細胞株において、細胞間接着因子 E 型カドヘリンの発現異常を検討すると同時に、その機能を癌の浸潤という点から細胞生物学的に評価したものである。

ヒト食道扁平上皮癌細胞株 TE-2 には、E 型カドヘリンを発現する clone [ECD (+)] と発現しない clone [ECD (-)] が混在していた。細胞間接着能を凝集及び分散実験で評価すると ECD (+) は ECD (-) より強い細胞間接着を示し、また阻害抗体による block よりその差は主として E 型カドヘリンのためであると考えられた。collagen/fibroblast gel を用いた in vitro の浸潤実験において ECD (+) は浸潤を示さないが ECD (-) は浸潤を示し、さらに E 型カドヘリンの阻害抗体添加により ECD (+) に浸潤が誘導された。

以上より、E 型カドヘリン発現消失または機能抑制により細胞間接着は著しく低下し、浸潤性は亢進することが明らかとなった。本研究は、E 型カドヘリン異常が、癌化及び癌の progression に強く関与することを証明したもので、学位に値すると考える。