



Title	Expression of CD44 splice variants in human transitional cell carcinoma
Author(s)	高田, 晋吾
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39906
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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	高田晋吾
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 1 2 4 2 2 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Expression of CD44 splice variants in human transitional cell carcinoma (ヒト移行上皮癌における CD44 スプライスバリエーションの発現)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 青笹 克之 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

【目的】接着分子のスーパーファミリーの1つである CD44 は 341 個のアミノ酸よりなる分子量が 80~90Kd の膜貫通型の糖タンパクであり、タンパク部分には高度な glycosilation を伴っている。機能的にはヒアルロン酸のレセプターであり、血球系においてはリンパ球の粘膜高内皮細静脈 (HEV) へのホーミングや細胞外マトリックスへの接着に関与しているとされている。最近、CD44 はリンパ系の組織だけでなく上皮細胞にも多く発現しており、上皮細胞での CD44 はリンパ球のそれより分子量の大きな 130~160Kb のバリエーションが存在することが報告されている。特に腫瘍細胞では 200Kd 以上の分子量をもつものが発現し、この変化はトランスクリプションの際の mRNA の選択的スプライシングによって起こると考えられている。今回、泌尿生殖器系の腫瘍のうち移行上皮癌について CD44 のバリエーションの発現について mRNA のスプライスバリエーションを RT-PCR, サザンブロット, 免疫組織化学を用いて解析することにより検討した。

【方法ならびに成績】RT-PCR・サザンブロットには 1992 年 7 月から 1993 年 6 月までの間に大阪大学医学部附属病院および関連病院で採取した移行上皮癌組織 (膀胱癌 22 例, 腎盂腫瘍 3 例), 正常移行上皮組織 11 例の組織を、また膀胱癌患者 7 例において早朝第 1 尿より遠心分離にて収集した細胞成分を使用した。検体採取後、切除標本と尿中細胞成分をできるだけ速やかに液体窒素にて凍結、-80 度にて保存しておいた。適宜、標本をホモゲナイズし、AGPC 法にて totalRNA を抽出した。これから Oligo dT16 をプライマーにし、reverse transcription にて cDNA を合成、選択的スプライシングの挿入部位を挟むように作成したプライマーにて PCR を行なった。この PCR 産物をナイロン膜にトランスファーし、³²P でラベルした CD44 特異的プローブを用いたサザンブロット法にて解析した。また、同時に OCT コンパウンドに包埋し保存しておいた正常および癌組織の手術標本および尿中細胞を、CD44 バリエーション (エクソン V5, V6, V7, V10) 特異的モノクローナル抗体を用いて、その発現を検討した。

結果、移行上皮癌では 25 例中 23 例 (92%) という高頻度で CD44 のバリエーションの増加が認められた。移行上皮癌で正常パターンを示した 2 例のうち 1 例は長期にわたって抗癌剤の膀胱内注入を受けていた患者であった。正常移行上皮では 11 例中 10 例が正常パターンであり移行上皮癌で有意 ($P < 0.01$) にバリエーションの増強が認められた。また同一症例の癌部と正常粘膜部の比較においても、大きな分子量を持つ CD44 のバリエーションの発現はその多様性と発現において明らかに癌部において増強していた。免疫組織化学では CD44 バリエーションの V6 が低悪性度の移行上皮癌で基底膜近傍に発現しており、悪性度が高くなるほど全体に均一に発現するようになっていった。また、7 例中 5 例

(71%) の症例で尿中細胞でも RT-PCR・サザンブロットにて CD44 バリエントの検出が可能であった。

【総括】これまで、腫瘍組織での接着分子の発現量の変化などの報告は多くあるが、その構造において腫瘍組織で変化しているという報告は少なく腫瘍化に伴う CD44 の多様性の出現は興味深い。本研究では、RT-PCR・サザンブロットによる尿路移行上皮癌での CD44 バリエントの増強が示唆され、その出現パターンは同一人の正常部分と相違していることが明らかとなった。この現象はヒト移行上皮が何らかの悪性化に伴い形質変化を起こした結果の反映であると考えられた。

ホフマンらによるとラット転移性膀胱癌細胞で高率に CD44 バリエントの増加が認められ、また、CD44 バリエントの抗体を投与することにより転移が抑制されたり、また最近では CD44 がその細胞内部分においてアクチンと連絡し、細胞運動能に関与していることが判明してきており、特に CD44 バリエントと転移、浸潤能との関係は注目される。

一方、CD44 バリエントはその発現量の多さより、RT-PCR・サザンブロットや免疫組織化学にて、腫瘍組織からだけでなく、自然尿の尿中細胞からも非侵襲的に検出可能であることから、補助的診断として臨床への応用も可能と思われた。

論文審査の結果の要旨

尿路移行上皮癌は泌尿器科領域において最も頻度の高い悪性腫瘍であるが、その発生原因や臨床における有用な腫瘍マーカーは不明である。本研究は腫瘍細胞より抽出した RNA を用いて分子生物学的手法により移行上皮癌の特徴を捉えた研究である。

移行上皮癌組織から RT-PCR・サザンブロットハイブリダイゼーションを用いての CD44 スプライスバリエントの検出率は約 90% と高率であり、正常移行上皮からはほとんど検出されなかった。また、尿中細胞からも検出可能であり、補助診断として臨床応用への可能性も示唆した。併せて CD44 バリエント特異的モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検討にても癌浸潤度との関係を検討した。

移行上皮癌の遺伝子変化では確定的なものは未だ無いと言わざるを得ないが本研究におけるが如き高率に出現する遺伝子変化の研究を蓄積していくことにより徐々にその本体が明らかになっていくと考えられる。

以上のことから本研究は、尿路移行上皮癌の病因解明、臨床応用に寄与するものであり学位に値すると思える。