



Title	Integrin $\alpha 3 \beta 1$ -mediated interaction with laminin-5 stimulates adhesion, migration, and invasion of malignant glioma cells
Author(s)	福島, 裕治
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40763
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	福島裕治
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第13715号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Integrin $\alpha 3 \beta 1$ -mediated interaction with laminin-5 stimulates adhesion, migration, and invasion of malignant glioma cells. (インテグリン $\alpha 3 \beta 1$ のリガンド, ラミニン-5による悪性グリオーマの接着, 遊走, 浸潤促進)
論文審査委員	(主査) 教授 関口 清俊 (副査) 教授 早川 徹 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

【目的】

インテグリンと細胞外基質との相互作用が接着, 遊走, 浸潤, 増殖を始めとする細胞の様々な挙動に多大な影響を及ぼすことが明らかにされてきた。悪性グリオーマは強い浸潤性をその特徴とするが, インテグリンの中でも $\alpha 3 \beta 1$ の発現が強く亢進していることが報告されている。本研究は, インテグリン $\alpha 3 \beta 1$ のリガンドであるラミニン-5のグリオーマ組織及び細胞株における発現を調べるとともに, インテグリン $\alpha 3 \beta 1$ とラミニン-5との相互作用がグリオーマ細胞の接着, 遊走, 浸潤にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とする。

【方法】

ヒト上皮細胞株 A431 の totalRNA から, ラミニン-5 に特異的なサブユニット鎖である $\gamma 2$ 鎖の mRNA を RT-PCR により増幅し, 大腸菌にてリコンビナント蛋白を発現させた。それを家兎に免疫し, 得られた抗体で作成したカラムを用いて, 胃癌細胞株 MKN-45 の培養上清からラミニン-5 を精製した。精製ラミニン-5 を用いて, グリオーマ細胞の接着, 遊走, マトリゲル浸潤に及ぼす影響を他の細胞外基質 (ラミニン-1, ラミニン-2, フィブロネクチン, ビトロネクチン) と比較し, 更に抗インテグリン抗体を用いた阻害実験により関与しているインテグリンを調べた。遊走は, 筒を用いて細胞を円形に接着させ, 16時間培養後の遊走距離より判定した。浸潤は, マトリゲル上室の細胞懸濁液に各種の基質蛋白を $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ になるように加え, 24時間培養後にマトリゲルを貫通してメンブレン下面に到達した細胞を数えることにより判定した。ヒトグリオーマ組織及び細胞株におけるラミニン-5 の発現は, RT-PCR 及び免疫組織染色により調べた。

【成績】

精製したラミニン-5 の同定は, ラミニン-5 を構成するサブユニット鎖 ($\alpha 3$, $\beta 3$, $\gamma 2$ 鎖) を各々特異的に認識する抗体を用いたイムノブロットングにより行った。ラミニン-5 は, 接着, 遊走, 浸潤ともに検討した基質の中で最も強い促進活性を示し, フィブロネクチンと比して, 遊走では 2 倍, 浸潤では 10 倍以上の活性を示した。抗インテグリン抗体を用いた阻害実験によりラミニン-5 のこれらの作用がインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ を介したものであることを確認した。検討した全てのサンプル (ヒトグリオーマ細胞 3 株, ヒトグリオーマ組織 3 例) においてラミニン-5 の各構成

鎖 mRNA の発現を確認した。免疫組織染色の結果、ラミニン-1が血管周囲にのみ特異的に発現しているのに対し、ラミニン-5は腫瘍間質や腫瘍細胞に発現が見られた。

【総括】

グリオーマにおいてインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ の発現が強く亢進していることはよく知られていたが、その機能については不明であった。本研究により、1) インテグリン $\alpha 3 \beta 1$ とその主要なリガンドであるラミニン-5との相互作用が *in vitro* でグリオーマ細胞の浸潤を強く促進すること、及び、2) ラミニン-5が実際にヒトグリオーマ組織で発現していることが明らかとなった。*in vivo* においても、両者の相互作用が悪性グリオーマの強い浸潤性格の一因となっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

インテグリンは、細胞外基質への接着を介して癌細胞の浸潤・転移に関与することがこれまでの様々な報告から推定されている。本論文は、悪性グリオーマがインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ を強く発現していることに着目し、このインテグリンと特異的に相互作用する細胞外基質分子ラミニン-5がグリオーマ細胞の基質への接着、基質上での遊走、および基底膜浸潤にどのように関わっているかを精製ラミニン-5標品を用いて詳細に解析している。実験系の確立にあたっては、ラミニン-5の精製と同定のために独自の単クローン抗体を調製したり、遊走能の解析のために独自に装置を創作するなど、様々な工夫が凝らされている。得られた結果の中で特に新規性が高く注目すべき点は、以下のごとくである。1) ラミニン-5はこれまで報告されている他のラミニン分子種やフィブロネクチン、ビトロネクチンに比べ、格段に強い細胞接着活性および細胞遊走促進活性をグリオーマ細胞に対して示し、この活性はインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ 依存性である；2) ラミニン-5はグリオーマ細胞の基底膜浸潤能を選択的に促進する；3) グリオーマ細胞はラミニン-5を発現しており、実際、悪性グリオーマの腫瘍間質にラミニン-5がびまん性に検出される。これらの結果は、グリオーマ細胞自身が分泌するラミニン-5が細胞表面のインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ との相互作用を通じてグリオーマ細胞の *in vivo* での浸潤を惹起している可能性を強く示唆しており、悪性グリオーマの浸潤性の分子基盤を解明する上で重要な手がかりを与えるものである。

以上より、本論文は学位の授与に値するものと認められる。