

Title	α -Catenin-Deficient F9 Cells Differentiate into Signet Ring Cells
Author(s)	前野, 良人
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42819
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	前野良人
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15692 号
学位授与年月日	平成12年8月7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	α-Catenin-Deficient F9 Cells Differentiate into Signet Ring Cells (α カテニン欠損 F9 細胞は印環細胞へと分化する)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人 (副査) 教授 青笹 克之 教授 高井 義美

論文内容の要旨

【目的】

α カテニンはEカドヘリンとアクチン細胞骨格をクロスリンクする細胞質内因子で、カドヘリンを介した強い細胞間接着において重要な働きを持つことが明らかにされている。これまでの臨床材料の免疫染色よりびまん型腺癌では α カテニンの発現が減弱もしくは消失していることが報告されている。 α カテニンの機能解析はこれを欠損した癌細胞株を用いて行われてきた。しかしながらこれらの研究では臨床材料由来の癌細胞株の性質上、 α カテニンだけが欠損しているのかどうか不明であり、また癌細胞株が上皮細胞由来であるため非上皮細胞での α カテニンの役割を言及できなかった。そこで今回、我々はマウス奇形癌腫由来の未分化細胞株F9で α カテニンの遺伝子を人為的に破壊し、 α カテニン遺伝子欠損細胞を作成した。この細胞を用いて、 α カテニンが細胞間接着及び上皮細胞への分化に与える影響を検討した。

【方法】

α カテニン遺伝子を標的組み換えの手法を用い、マウス奇形癌腫細胞F9において欠損させた。遺伝子の欠損はサザンブロットで確認した。 α カテニン欠損細胞に α カテニン遺伝子を再導入しコントロールとした。細胞解離実験および再凝集実験を行い細胞間接着能を検定した。さらに、F9細胞にレチノール酸を添加し、上皮細胞へと分化誘導し細胞間接着装置の形成状況を共焦点レーザー顕微鏡や電子顕微鏡にて観察した。

【成績】

1) α カテニン遺伝子欠損F9細胞の樹立

サザンブロットにより α カテニン遺伝子の欠損を、またウェスタンブロットにより α カテニタンパク質も生成されていないことが判明した。次に、抗Eカドヘリン抗体で免疫沈降を行った。 α カテニン欠損細胞ではEカドヘリンと β カテニンのみで安定した複合体が形成されていた。

2) 細胞間接着能の減弱

α カテニン欠損細胞は細胞密度の低い培養条件下ではびまん型の形態を呈した。細胞間接着能を検定すると、強い細胞間接着能は認めないが弱い細胞間接着能が保持されていた。この弱い細胞間接着能はEカドヘリンの機能阻害抗体で抑制された。カドヘリンを介した細胞間接着に特徴的な強固な細胞間の結合には α カテニンが必須であることが示唆された。また、 α カテニンに結合する、ZO-1やヴィンキュリンなどの細胞質因子の局在も見られなくなった。

3) 細胞間接着装置への影響

野生型の F9 細胞はレチノール酸添加により極性を持った上皮細胞へと分化し、細胞間には上皮細胞に特有の細胞間接着装置 (apical 側より密着結合・接着結合・デスモソームの順) が形成される。しかしながら α カテニン欠損細胞では上皮分化マーカー遺伝子は発現するものの正常な細胞間接着装置の形成は認められなかった。

4) 印環細胞の形成

上皮細胞に分化誘導した α カテニン欠損 F9 細胞では細胞間接着力が未分化の場合と比べて極端に低減した。さらに、培養液中で単細胞で浮遊している細胞が印環細胞様の形態を示した。この細胞を電子顕微鏡にて観察すると細胞質の内腔側に多数の微絨毛を認めた。また、上皮分化マーカー遺伝子を発現し PAS 染色陽性であることから、びまん型腺癌に高頻度で見られる印環細胞と同様の性質を持つことが示された。

【総括】

本研究により α カテニンの遺伝子異常がびまん型腺癌のみならず、印環細胞癌形成の直接原因の一つであることが示唆された。これにより、スキルス胃癌を含むびまん型腺癌に高頻度で見られる印環細胞形成のモデルシステムができ、印環細胞の形成機構の解明、診断方法の開発につながる重要な進展が得られた。

論文審査の結果の要旨

マウス奇形癌腫細胞株 F9 で α カテニンの遺伝子を人為的に破壊し、 α カテニン遺伝子欠損細胞を作成し、 α カテニンが細胞間接着及び上皮細胞への分化に与える影響を検討した。

本研究により α カテニンが欠損するとカドヘリンを介した強い細胞間接着が維持できないこと、 α カテニンは細胞の分化には影響を与えないものの細胞間接着装置の形成の際に必要なことが証明された。

また、 α カテニンの遺伝子異常がびまん型腺癌のみならず、印環細胞癌形成の直接原因の一つであることが示唆された。この結果スキルス胃癌を含むびまん型腺癌で見られる印環細胞形成のモデルシステムができ、印環細胞の形成機構の解明、診断方法の開発につながる重要な進展が得られた。以上より、学位に値すると思われる。