



Title	EFFECTS OF HEPATOCYTE GROWTH FACTOR ON E-CADHERIN-MEDIATED CELL-CELL ADHESION IN DU145 PROSTATE CANCER CELLS
Author(s)	三浦, 秀信
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43222">https://hdl.handle.net/11094/43222</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	三浦秀信
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16651 号
学位授与年月日	平成14年1月31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	EFFECTS OF HEPATOCYTE GROWTH FACTOR ON E-CADHERIN-MEDIATED CELL-CELL ADHESION IN DU145 PROSTATE CANCER CELLS (ヒト前立腺癌細胞株 DU145における E-cadherin の関与する細胞間接着に及ぼす肝細胞増殖因子の効果)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦  (副査) 教授 青笹 克之 教授 中村 敏一

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

前立腺癌はアメリカにおいては男性の癌死の原因の第2位を占める疾患であり、日本においても年々増加してきている。前立腺癌患者にとって遠隔転移の有無はその予後を左右する重要な因子であり、前立腺癌の転移のメカニズムの解明が急がれるところである。

一方、HGF (Hepatocyte Growth Factor、肝細胞増殖因子) は当初は強力な肝再生因子として報告されたが、その後の研究でその作用は多様で多種の細胞に作用することがわかってきており、特に HGF の代表的な生物活性である scattering は癌細胞の浸潤・転移との関連性において最近注目されている。scattering が細胞の分散現象であることを考えると、scattering 時には細胞間接着機構に何らかの変化が起きていると推察されるが、そのメカニズムについては十分解明されていない。現在、細胞間接着の主役と考えられているのは E-cadherin であり、さらに E-cadherin の裏打ち蛋白である  $\alpha$ -catenin、 $\beta$ -catenin の重要性も報告されている。そこで本研究では HGF 刺激により scattering が起こることが確認されたヒト前立腺癌細胞株 DU145を用いて、scattering 時の E-cadherin を中心とした細胞間接着分子の関与・変化を検討した。

#### 【方法】

マテリアルとして HGF のレセプターである c-Met の発現があり、HGF 刺激により scattering が確認されたヒト前立腺癌細胞株 DU145を用いた。scattering への E-cadherin の関与に関して、E-cadherin 中和抗体を用いた Inhibition assay を行った。HGF 刺激に伴う E-cadherin、 $\alpha$ -catenin、 $\beta$ -catenin 各蛋白発現量の変化は Western blot 法にて調べた。さらに HGF 刺激に伴う E-cadherin 蛋白発現部位の変化を蛍光免疫染色法にて検討した。

#### 【成績】

##### 1) HGF 刺激による DU145細胞の形態変化

cluster を形成して増殖した DU145に HGF 10ng/ml を添加すると細胞は徐々に分散 (scattering) し、48時間後には完全に細胞は分散した。

##### 2) E-cadherin 中和抗体添加による DU145細胞の形態変化

DU145細胞に E-cadherin 中和抗体を添加後24時間後には細胞は徐々に分散し、この形態変化は HGF 刺激時の scattering に類似していた。この結果から scattering に E-cadherin が関与していることが示唆された。

### 3) HGF 刺激に伴う細胞間接着分子の蛋白発現量の変化

Western blot 法において、DU145細胞の E-cadherin 蛋白の発現量は HGF 刺激後24、48時間後で低下したが、 $\alpha$ -catenin、 $\beta$ -catenin 蛋白の発現量には変化は見られなかった。この結果から DU145細胞における scattering には E-cadherin 蛋白発現量の低下が関与しているものと思われた。

### 4) HGF 刺激に伴う E-cadherin 蛋白発現部位の変化

蛍光免疫染色法において、通常の DU145細胞では E-cadherin 細胞間接着部位に発現していたが、HGF 刺激により分散した細胞では細胞表面での発現がほとんど消失し、細胞質内での顆粒状の発現が増加していた。この結果より DU145細胞における scattering には、E-cadherin が細胞膜上より細胞質内へ移動していることが関与しているものと思われた。

#### 【総括】

本研究でヒト前立腺癌細胞株 DU145における HGF 刺激による scattering 時には、E-cadherin 蛋白発現量の低下と発現部位の移動が起こっていることが明らかになった。一般的には細胞膜に存在する蛋白が細胞質内に取込まれる時にはそれは endocytosis によると考えられており、HGF 刺激に伴う DU145での scattering のメカニズムは E-cadherin が endocytosis され分解されることにより、E-cadherin がその機能を失うことにあるのではないかと考えられた。

臨床レベルでは E-cadherin の発現の低下が転移を有する率、予後不良に相関し、E-cadherin は予後規定因子の一つとする報告が散見される。本研究で前立腺間質細胞からの産生が確認されている HGF が E-cadherin の発現を低下させたことより、HGF が前立腺癌の転移における調節因子の一つである可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

前立腺癌は近年増加の一途をたどり、その臨床的な重要性は増している。特に転移の有無は前立腺癌患者の予後を大きく左右するためそのメカニズムの解明が待たれている。

本研究は肝細胞増殖因子 (HGF: Hepatocyte Growth Factor) の前立腺癌細胞に対する scattering 作用と scattering 時の細胞間接着分子の変化について検討したものである。前立腺癌細胞株 LNCaP、PC-3、DU145の中では、PC-3、DU145で HGF の receptor である c-Met の発現が認められ、DU145で HGF 刺激による scattering が確認された。DU145では E-cadherin 中和抗体により scattering 類似の変化が見られ、scattering 時には E-cadherin タンパク発現量が低下し、その発現部位が細胞膜上から細胞質内に移動していた。以上の結果から DU145での HGF 刺激に伴う scattering のメカニズムは、E-cadherin が endocytosis されて分解されるためにその機能が低下することによることが推察された。臨床レベルでは E-cadherin の発現の低下が転移巣の存在する可能性や予後不良と相関するとされており、一部の前立腺癌においては HGF が E-cadherin の関与する細胞間接着機構を介して浸潤、転移を調節している可能性が示唆された。

本研究の成果は前立腺癌の浸潤、転移の原因解明に寄与するものであり、学位に値すると考えられる。