



| | |
|--------------|---|
| Title | Lysophosphatidic acid induces focal adhesion assembly through Rho /Rho-associated kinase pathway in human ovarian cancer cells |
| Author(s) | 澤田, 健二郎 |
| Citation | 大阪大学, 2002, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43953 |
| 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 | 澤 田 健 二 郎 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 7 3 2 6 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 14 年 10 月 30 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻 |
| 学 位 論 文 名 | Lysophosphatidic acid induces focal adhesion assembly through Rho/Rho-associated kinase pathway in human ovarian cancer cells. (リゾフォスファチジン酸はヒト卵巣癌細胞において、Rho/Rho キナーゼ系を介して、接着斑形成を促進する。) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 奥 山 明 彦 教 授 高 井 義 美 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕 卵巣癌は婦人科癌の中でも最も予後不良な癌で、最新の抗腫瘍効果の強い抗癌剤が多く臨床応用されているにも関わらず、いまだ劇的な予後の改善は認められていない。卵巣癌患者の最大の死因は癌細胞の腹腔内臓器への浸潤、すなわち、腹膜播種であり、そのステップは癌細胞の原発巣からの離脱、癌細胞の血管内皮細胞への接着、内皮細胞の間隙の通過、基底膜の破壊、間質内への浸潤からなる。このなかでも癌細胞の浸潤とは方向性のある細胞運動であり、そのメカニズムの解析とそれを制御する薬剤の臨床応用の検討は卵巣癌治療の新しい治療法への道を開きうるものと考えられる。

細胞運動は細胞の先端端での突出、先端端の内側でのインテグリンなど接着分子を介した細胞外基質への接着斑の形成、これに伴い細胞後方部では細胞外基質との接着が解除され、細胞体が運動装置であるアクチン系（ミオシン系）の収縮により、前方に牽引されるという過程の繰り返しが厳密にコントロールされることにより進行するが、この細胞運動の時間的空間的制御については低分子 G 蛋白質 Rho ファミリーのメンバーが重要な役割を果たしていることが数多く報告されている。一方、この Rho を活性化する物質はいくつか報告されているが、その代表的なものが Lysophosphatidic acid (LPA) である。LPA は卵巣癌患者腹水中に存在する ovarian cancer activating factor として同定され、卵巣癌患者の血中濃度が正常人に比べて有意に高いことが報告されており、LPA は卵巣癌の有力な増悪因子と考えられている。本研究では、卵巣癌細胞における LPA による運動能および浸潤能の亢進の観察と Rho/Rho キナーゼ系に焦点をあてたメカニズムの解析を行った。

〔方法ならびに成績〕

ヒト卵巣癌細胞は、代表的な抗癌剤であるシスプラチンに耐性のある Caov-3 と OVCAR-3 の二つの細胞株を用いた。まず、RT-PCR 法を行い、両者の細胞に LPA 受容体 LPA_{1-3} がすべて発現していることを確認した。続いて、Boyden Chamber 変法による *in vitro* migration assay を行い、癌細胞の運動能を評価した。卵巣癌細胞は LPA により、濃度依存的に運動能が亢進した。それら運動能の亢進は低分子量 G 蛋白質 Rho の抑制作用をもつ C3 exoenzyme、Rho の下流にある Rho キナーゼの抑制剤である Y-27632 や、ミオシン軽鎖キナーゼの抑制剤である ML-7 の投与によって、有意に抑制された。さらに細胞運動能のメカニズムを解析するべく、細胞運動の必須な構成要素であるアクチン

細胞骨格と接着斑を免疫蛍光化学染色法で観察した。卵巣癌細胞は LPA 投与により、著明なストレスファイバーと接着斑の形成を認めた。また、接着斑の形成に一致して、接着斑蛋白のチロシンリン酸化が認められた。これらの現象は前述の C3 exoenzyme、Y-27632 および ML-7 の投与によって、抑制された。また、Western Blot 法にて、LPA による接着斑蛋白 (focal adhesion kinase および paxillin) のチロシンリン酸化とこれらの抑制剤によるリン酸化の抑制を観察した。

〔総括〕ヒト卵巣癌において、LPA は Rho/Rho キナーゼ系を介して、ストレスファイバーと接着斑の形成を促進することにより、その運動能を亢進することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

卵巣癌は婦人科癌の中でも最も予後不良な癌で、最新の抗癌剤が多く臨床応用されているにも関わらず、いまだ予後の改善は認められていない。卵巣癌患者の主な死因は腹膜播種であり、そのステップは癌細胞の原発巣からの離脱、腹腔内臓器細胞外基質への接着、細胞間隙の通過、基底膜の破壊、間質内への浸潤からなる。なかでも癌細胞の通過浸潤は方向性のある細胞運動の結果であり、そのメカニズムの解析とそれを制御する薬剤の臨床応用の検討は重要な課題である。本論文は卵巣癌細胞の浸潤能が有力な増悪因子であるリゾフォスファチジン酸により亢進することを Boyden Chamber 変法を用いた *in vitro* の系で証明し、さらに免疫蛍光染色法と Western blot 法を用いて、そのメカニズムに Rho-Rho キナーゼ-アクトミオシン系を介するストレスファイバーおよび接着斑形成の促進が大きく関与していることを初めて報告したものである。本論文の研究手法は独創的であり、かつ得られた結果は基礎的研究としてだけでなく新たな卵巣癌治療への道を開く可能性があり、臨床上の意義は大きいものと考えられる。よって、本論文は博士 (医学) の学位授与に値する。