



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Invasive human pancreatic carcinoma cells adhere to endothelial tri-cellular corners and increase endothelial permeability                                                                                                                                           |
| Author(s)    | 中井, 慶                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 2006, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/46164">https://hdl.handle.net/11094/46164</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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           | 中 井 慶                                                                                                                                                                                                 |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                             |
| 学 位 記 番 号     | 第 19893 号                                                                                                                                                                                             |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 18 年 1 月 19 日                                                                                                                                                                                      |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>医学系研究科臓器制御医学専攻                                                                                                                                                                    |
| 学 位 論 文 名     | Invasive human pancreatic carcinoma cells adhere to endothelial tri-cellular corners and increase endothelial permeability.<br>(浸潤性ヒト膵臓癌細胞株は、血管内皮細胞が形成する tri-cellular corner に接着し、血管内皮細胞層の透過性亢進を誘導する) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 田 野 保 雄<br><br>(副査)<br>教 授 高 井 義 美    教 授 門 田 守 人                                                                                                                                         |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

癌の血行性転移は、癌細胞の原発巣からの離脱に始まり、微小血管による癌細胞の捕捉とその血管外遊出および転移巣形成を経て成立する多段階反応である。この過程で、癌細胞と血管内皮細胞の相互作用により誘導される血管透過性の亢進が、癌細胞の血管外遊出に重要な役割を担うと考えられているが、その分子機序については不明な点が多い。本研究では、浸潤性ヒト膵癌細胞株とヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用い、癌細胞が誘発する血管透過性亢進の分子機構について解析した。

#### 【方法ならびに成績】

(1) 浸潤性ヒト膵癌細胞の HUVEC への接着による血管透過性亢進の誘導: 単層培養した HUVEC に浸潤性ヒト膵癌細胞株 (MIA PaCa-2、PANC-1 および PSN-1) を添加し、HUVEC の電気抵抗性 (TEER; transendothelial electronic resistance) を経時的に測定、癌細胞の血管透過性に及ぼす影響を解析した。その結果、MIA PaCa-2 および PANC-1 は添加早期から HUVEC TEER を強く低下するのに対して、PSN-1 は弱い TEER 低下のみを誘導することが示された。Transwell filter を用いた実験から、MIA PaCa-2 による HUVEC TEER の低下には、MIA PaCa-2 と HUVEC の直接の接着が重要であることが示された。この結果と一致して、cytochalasin B 処理した MIA PaCa-2 では HUVEC への接着および HUVEC TEER 低下誘導活性の両者が著しく阻害されていた。また、MIA PaCa-2 の培養上清には明らかな血管透過性亢進活性は認められず、VEGF に対する中和抗体も明らかな影響を示さなかった。また、癌細胞と血管内皮細胞の相互作用に関与する  $\beta 1$  integrin、CD44 および CD9 に対する中和抗体や、メタロプロテアーゼ、チロシンキナーゼ、リポキシゲナーゼに対する特異的阻害剤は MIA PaCa-2 による HUVEC TEER の低下に明らかな影響を示さなかった。これらの結果から、MIA PaCa-2 による HUVEC の透過性亢進には、MIA PaCa-2 の HUVEC への接着が重要であるが、癌細胞と血管内皮細胞の相互作用に関与する既知の接着経路や VEGF などの可溶性因子の明らかな関与は認められなかった。

(2) 膵癌細胞の HUVEC が形成する tri-cellular corner への接着と junction 開裂の誘導: これまでの解析から、好中

球の HUVEC への接着と血管外遊走は隣接する 3 つの HUVEC が形成する tri-cellular corner で選択的に起こることが示されている。そこで膵癌細胞株の HUVEC への接着の部位特異性を解析した結果、TEER 低下誘導活性の強い MIA PaCa-2 と PANC-1 は HUVEC が形成する tri-cellular corner に選択的に接着するが、TEER 低下誘導活性の弱い PSN-1 はそのような選択性をもたない事が示された。一方、これら膵癌細胞の HUVEC への接着細胞数に明らかな違いは認められなかった。さらに膵癌細胞の接着が誘導する HUVEC の junction に濃縮する接着分子の局在変化を蛍光抗体法を用いて解析した結果、MIA PaCa-2 の接着部位に局限して HUVEC junction を構成する VE-cadherin および CD31 の局在が変化し、これらの染色の著しい減弱が観察された。これらの結果から、HUVEC TEER の低下を強く誘導する膵癌細胞は HUVEC が形成する tri-cellular corner に選択的に接着し、その接着部位で接着分子の局在変化を伴う HUVEC junction の開裂を誘導することが示唆された。

#### 【総括】

本研究を通じて、浸潤性ヒト膵癌細胞 MIA PaCa-2 および PANC-1 は HUVEC が形成する tri-cellular corner に選択的に接着し、速やかにその透過性亢進を誘導することが示された。この血管透過性亢進には、膵癌細胞と HUVEC の直接の接着が重要であるが、癌細胞と血管内皮細胞の相互作用に関与する既知の主要な接着経路や可溶性因子の明らかな関与は認められなかった。また、MIA PaCa-2 と HUVEC の接着部位に局限して、HUVEC の junction 構造を形成する接着分子である VE-cadherin や CD31 の局在変化と junction の開裂が誘導され、HUVEC の透過性亢進が惹起されることが示された。以上の結果より、癌細胞の血管内皮細胞への部位特異的な接着が癌細胞による血管透過性の亢進に重要な意義をもつことが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

癌の血行性転移は、癌細胞の原発巣からの離脱に始まり、微小血管による捕捉と血管外遊出および転移巣形成を経て成立する多段階反応であり、癌細胞による血管透過性の亢進が血管外遊出に重要であると考えられているが、その分子機序については不明な点が多い。申請者は、ヒト膵癌細胞 MIA PaCa-2、PANC-1 はヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) が形成する tri-cellular corner に選択的に接着し、血管透過性亢進を誘導することを示した。これには直接の接着が重要であり、既知の接着経路や可溶性因子の関与は認めなかった。また接着部位に局限して、HUVEC junction を形成する VE-cadherin や CD31 の局在変化と junction の開裂が誘導され、血管透過性亢進が惹起されることが示された。以上より、癌細胞の部位特異的な接着が血管透過性亢進に重要であると示唆された。本論文は癌細胞による血管透過性亢進における接着の重要性に寄与したと考えられ、博士の学位授与に値する。