

Title	MYCN downregulates integrin $\alpha$ 1 to promote invasion of human neuroblastoma cells
Author(s)	田中, 夏美
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49892">https://hdl.handle.net/11094/49892</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【27】

氏名	と な かつ み 田 中 夏 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 2 5 4 3 号
学位授与年月日	平成 20 年 10 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	MYCN downregulates integrin $\alpha 1$ to promote invasion of human neuroblastoma cells (MYCN はインテグリンアルファ 1 を下方制御し神経芽腫細胞の浸潤を促進する)
論文審査委員	(主査) 教授 福澤 正洋 (副査) 教授 野口眞三郎 教授 青笹 克之

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

神経芽腫は神経堤由来の悪性腫瘍で、小児外科領域における悪性固形腫瘍において最も多く、小児がん死亡の約 15%を占める。神経芽腫は血行性に骨、骨髄、肝に好んで転移し主な死因となるが、その転移の分子機構は未だ不明である。神経芽腫において MYCN は最も強い予後因子であり、MYCN 遺伝子増幅症例は早期から浸潤、転移傾向を示して予後不良である。最近 MYCN の発現が腫瘍細胞増殖の促進、アポトーシスの抑制、分化の抑制などに関与することが明らかになってきたが、細胞浸潤や転移に対する MYCN の関与については明らかでない。

ない。

本研究では悪性腫瘍の転移浸潤と深い関わりをもつ細胞接着分子に着目し、細胞接着分子と MYCN とが神経芽腫転移において果たす分子機構を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

神経芽腫から樹立された細胞株のうち、MYCN 増幅の細胞株 NB1, NB9, NB19, IMR32 と MYCN 非増幅の細胞株 NB69 及び SK-N-SH を用いた。まず、細胞接着分子が神経芽腫の悪性度と相関するかどうかを検討するために MYCN と細胞接着分子の内在性発現レベルとを解析した。その結果、MYCN 非増幅の細胞株でインテグリンアルファ 1 の高発現が認められた。

次に、MYCN 増幅神経芽腫細胞株 NB1 および NB19 に対し、MYCN を特異的に抑制する siRNA を導入し、MYCN の発現を抑制した。どの遺伝子配列にも対応しない siRNA を導入した細胞を対照として用いたところ、MYCN 発現抑制によりインテグリンアルファ 1 の発現が亢進した。

これらの細胞を用いて MYCN 発現抑制によるインテグリンアルファ 1 の発現亢進が神経芽腫細胞の接着に関与するかどうかを細胞接着アッセイで検討した。細胞外基質であるラミニン、コラーゲン、フィブロネクチンでコーティングした 24 ウエルディッシュに  $1 \times 10^4$  個の細胞を撒き 20 分間インキュベートして接着した細胞数を検鏡、測定した。その結果、MYCN 発現抑制によりインテグリンアルファ 1 のライガンドであるラミニン及びコラーゲンへの接着が亢進し、その亢進はインテグリンアルファ 1 阻害剤により解除された。

次に、MYCN 発現抑制によるインテグリンアルファ 1 の発現亢進が神経芽腫細胞の浸潤に関与するかどうかを検討するために細胞運動能を Boyden chamber を用いた migration assay で検討した。upper chamber に  $5 \times 10^4$  個の細胞を撒き、24 時間後に膜の裏面に移動した細胞数を HE 染色して検鏡、測定したところ、MYCN 発現抑制により細胞運動が約半分低下し、インテグリンアルファ 1 阻害剤により回復した。

最後に、MYCN 過剰発現により上記結果の裏付けがとれるかどうかを検討した。MYCN 発現ベクターである pCS2+MYCN を MYCN 非増幅の細胞株 NB69 及び SK-N-SH へ遺伝子導入し、同様に細胞接着アッセイと migration assay を行った。その結果、MYCN 過剰発現により細胞接着が低下し、細胞運動が亢進した。これらの変化はインテグリンアルファ 1 の阻害剤により解除された。

以上の結果より、MYCN はインテグリンアルファ 1 を下方制御し神経芽腫細胞の浸潤を促進することが示唆された。

〔 総 括 〕

神経芽腫転移において MYCN はインテグリンアルファ 1 を下方制御する事により細胞外基質への接着を減弱し細胞運動を促進し、神経芽腫の浸潤、転移に深く関与していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

### 〔目的〕

神経芽腫は神経堤由来の悪性腫瘍で、小児外科領域における悪性固形腫瘍において最も多く、小児がん死亡の約15%を占める。神経芽腫においてMYCN遺伝子増幅症例は早期から浸潤、転移傾向を示して予後不良であるが、細胞浸潤や転移に対するMYCNの関与については明らかにされていない。本研究では悪性腫瘍の転移浸潤と深い関わりをもつ細胞接着分子に着目し、細胞接着分子とMYCNとが神経芽腫転移において果たす分子機構を検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

神経芽腫細胞株を用い、MYCNと細胞接着分子の内在性発現レベルとを解析した。その結果、MYCN非増幅の細胞株でインテグリンアルファ1の高発現が認められた。siRNA-MYCNによりMYCNの発現を抑制したところ、MYCN発現抑制によりインテグリンアルファ1の発現が亢進した。細胞接着アッセイの結果、MYCN発現抑制によりインテグリンアルファ1のライガンドであるラミニン及びコラーゲンへの接着が亢進し、その亢進はインテグリンアルファ1阻害剤により解除された。migration assayの結果、MYCN発現抑制により細胞運動が約半分に低下し、インテグリンアルファ1阻害剤により回復した。最後に、MYCN過剰発現により細胞接着アッセイとmigration assayを行ったところ、細胞接着が低下し、細胞運動が亢進した。これらの変化はインテグリンアルファ1の阻害剤により解除された。

### 〔結語〕

神経芽腫転移においてMYCNはインテグリンアルファ1を下方制御する事により細胞外基質への接着を減弱し細胞運動を促進し、神経芽腫の浸潤、転移に深く関与していることが示唆された。  
以上学位の授与に値すると思われる。