The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional Analysis of T-cadherin in Cutaneous Squamous Carcinoma Cells
Author(s)	向山, 洋平
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54101
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

【141】

氏　　名	尚　山　洋　平（むこやまようへい）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２３４１４　号
学位授与年月日	平成21年９月25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	Functional Analysis of T-cadherin in Cutaneous Squamous Carcinoma Cells （皮膚扁平上皮癌細胞におけるT型カドヘリンの機能解析）
論文審査委員	（主査） 教　授　宮坂　昌之 （副査） 教　授　竹田　　潔　　教　授　祖父江憲治

論 文 内 容 の 要 旨

〔　目　　的　〕

皮膚は微生物の侵入を防ぐバリアとして機能し，その最外層の表皮は生涯を通じて再生する．表皮の大部分を構成する表皮細胞は，基底層のみで分裂し，分化に伴い上層へと移行する．表皮では細胞間の接着に寄与するE型カドヘリンが全層で発現し，基底層ではT型カドヘリンが限局的に発現する．皮膚扁平上皮癌ではT型カドヘリンの発現が低下するが，その機能については明らかではない．T型カドヘリンはGPIアンカーを介して細胞膜と結合するユニークなカドヘリン分子である．カドヘリンによる細胞間接着では，カドヘリン分子の細胞内領域が細胞骨格と連結することが重要であるため，この領域を持たないT型カドヘリンは接着以外の役割を担うと考えられる．本研究では，表皮基底細胞におけるT型カドヘリンの役割および扁平上皮癌への関与についての知見を得ることを目的とし，ヒト扁平上皮癌細胞株の細胞機能に対するT型カドヘリン発現の影響について検討した．

〔　方法ならびに成績　〕

最初に，ヒト扁平上皮癌細胞株HSC-1細胞にヒトT型カドヘリンcDNAを組み込んだ発現ベクターを遺伝子導入し，T型カドヘリン過剰発現株を得た．T型カドヘリン過剰発現株は，遺伝子未導入のHSC-1細胞と比較して明らかな増殖の低下を示した．この増殖低下は，T型カドヘリンに対するshRNAiベクターにより発現をノックダウンさせることで部分的に解除された．さらに，テトラサイクリン誘導性T型カドヘリン発現株では，添加したテトラサイクリン量に応じたT型カドヘリン発現量の増加と増殖の低下を示した．T型カドヘリン過剰発現株の細胞周期についてFACSにて解析したところ，G2/M期における遅延を示した．これらの結果は，T型カドヘリンが扁平上皮癌細胞の増殖を抑制することを示している．

次に，表皮と基底膜の接着に重要なβ1インテグリンについて解析した．総タンパク質画分あるいは細胞表面タンパク質画分中のβ1インテグリンをウェスタン・ブロッティングにて検出したところ，T型カドヘリンの発現はβ1インテグリン総量には影響を与えず，細胞表面発現量を亢進した．そこで，基底膜に豊富に存在する細胞外マトリックスとの接着について検討した．その結果，T型カドヘリン過剰発現株はⅠ型コラーゲンやⅣ型コラーゲン，フィブロネクチン，ラミニンに対する接着が亢進し，それらはいずれも抗β1インテグリンモノクローナル抗体によって阻害された．β1インテグリンはリサイクリングする分子であるため，その細胞内移行に対するT型カドヘリン発現の影響について調べた．その結果，T型カドヘリンの過剰発現は，血清飢餓によって誘発したβ1インテグリンの細胞内移行を遅延させたこれらの結果より，T型カドヘリンはβ1インテグリンの細胞内移行を抑制することで細胞表面の発現量を高め，細胞外マトリックスとの接着性を亢進させることが示唆された．

さらに，β1インテグリンの細胞内移行に対するT型カドヘリンの抑制機序について解析した．HSC-1細胞におけるβ1インテグリンの細胞内移行は，細胞膜からのコレステロール除去やチロシンキナーゼ阻害剤の処理によって抑制されたため，カベオラ依存的であることが示唆された．実際に，T型カドヘリン過剰発現株は，カベオラ依存的なコレラトキシンの取込も抑制した．興味深いことに，T型カドヘリンの過剰発現により，EGFレセプターのチロシンリン酸化が，チロシンキナーゼ阻害剤処理時と同様に低下した．そこで，EGF刺激してリン酸化を亢進させると，β1インテグリンは速やかに細胞内へ移行した．逆に，HSC-1細胞をEGFレセプター特異的阻害剤で処理すると，β1インテグリンの細胞内移行は抑制された．これらの結果より，T型カドヘリンによるβ1インテグリンの細胞内移行抑制において，EGFレセプターのリン酸化抑制を介したカベオラ依存性エンドサイトーシスの抑制が，少なくとも部分的に関与していると考えられた．

〔　総　　括　〕

本研究において，皮膚扁平上皮癌細胞にT型カドヘリンを強制発現させると，増殖が抑制され，細胞外マトリックスとの接着性が亢進した．これらの結果より，正常な表皮基底細胞が発現するT型カドヘリンは，細胞増殖を抑制的に調節するとともに表皮と真皮の付着にも寄与していると考えられた．また，癌化による発現低下により，制御不能な増殖を誘発し，基底膜からの離脱による転移を容易にすることが示唆された．

論文審査の結果の要旨

この研究では、T型カドヘリンの皮膚扁平上皮癌細胞における機能の解析を行った。T型カドヘリンは表皮基底層で発現し、皮膚扁平上皮癌では発現が低下している。この目的のために、ヒト皮膚扁平上皮癌由来の株化細胞を用い、遺伝子導入によりT型カドヘリン発現量の異なる細胞株を樹立して、細胞機能に与えるT型カドヘリンの影響を検討した。その結果、T型カドヘリンの過剰発現は細胞周期上のG_2M期の進行を遅延し，細胞増殖を抑制することが明らかとなった。さらに、β1インテグリンの細胞表面発現量を高めることにより、細胞外基質との接着性を亢進した。細胞表面β1インテグリンの発現亢進の機序として、EGFレセプターのリン酸化低下を介したカベオラ依存性β1インテグリン細胞内移行の抑制が考えられた。これらの結果より、皮膚扁平上皮癌におけるT型カドヘリンの発現低下は癌細胞の増殖と基底膜からの離脱をもたらす可能性が示唆された。これらの研究成果は、学位の授与に値すると考える。