



Plasminogen activator inhibitor-1 promotes fibrosarcoma cell migration by modifying cellular attachment to vitronectin via $\alpha V \beta 5$ integrin

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高橋, 毅 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1256

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 403号	学位授与年月日	平成15年 3月26日
氏 名	高 橋 毅		
論文題目	<p>Plasminogen activator inhibitor-1 promotes fibrosarcoma cell migration by modifying cellular attachment to vitronectin via $\alpha_v\beta_5$ integrin (プラスミノゲンアクチベーター1はインテグリンを介するビトロネクチンへの接着を調節することにより線維肉腫細胞の遊走を促進させる)</p>		

博士(医学) 高 橋 毅

論文題目

Plasminogen activator inhibitor-1 promotes fibrosarcoma cell migration by modifying cellular attachment to vitronectin via $\alpha_v\beta_3$ integrin

(プラスミノゲンアクチベーター 1 はインテグリンを介するビトロネクチンへの接着を調節することにより線維肉腫細胞の遊走を促進させる)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

腫瘍細胞が細胞外基質を分解し浸潤していく過程に線溶系のプラスミノゲン-プラスミン系が深く関わっている。すなわち、ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター (uPA) が細胞表面の特異受容体 (uPA receptor: uPAR) に結合して、細胞表面でプラスミノゲンからプラスミンを生成することで、細胞外基質の分解を助長し、腫瘍の浸潤を促進させると考えられている。uPA には2つの生理的インヒビターであるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI)-1、及び PAI-2 が存在し、両者は uPA 活性を阻害することで腫瘍細胞の浸潤を抑制すると期待された。しかし、様々な悪性疾患で腫瘍内の PAI-1 濃度が高い症例で予後が悪く、逆に PAI-2 の濃度が高い症例で予後が良いと報告されている。同じ uPA インヒビターであるにも関わらず、悪性疾患の予後との関わりが全く異なる理由について完全には解明されていない。そこで、本研究では腫瘍細胞を用いて、その細胞動態に重要である接着能、遊走能に対する PAI-1、PAI-2 の作用の相違を比較し、悪性疾患の予後との関わりを検討する事を目的とした。

〔方法〕

uPA と uPAR の発現が確認できたヒト線維肉腫細胞 (HT-1080) を用いて以下の実験を施行した。

(1) 接着能

96穴プレートを細胞外基質の主要な構成蛋白であるビトロネクチン (Vn)、IV 型コラーゲン (Col)、フィブロネクチン (Fn) で被覆し、 4×10^4 /well の細胞を PAI-1、PAI-2 の存在下で1時間培養後、接着細胞数を比較した。

(2) 遊走能

セル・カルチャー・インサートのフィルターの上面、下面を種々の蛋白で被覆し、 5×10^4 /well の細胞を PAI-1、PAI-2 の存在下で6時間培養し、フィルターの上面から下面に移動する細胞数を比較した。

〔結果〕

- (1) HT-1080 細胞は Vn、Col へ強い接着性を示したが、Fn へとほとんど接着性を示さなかった。PAI-1 は濃度依存性に Vn への接着を抑制したが、Col、Fn への接着には影響しなかった。PAI-2 の細胞接着への関与は認められなかった。
- (2) PAI-1 は HT-1080 細胞の Vn から Vn への遊走を抑制したが、逆に、Vn から Col への遊走を濃度依存性に促進させた。さらに Vn に対する接着因子 ($\alpha_v\beta_3$ インテグリン) の抗体、及び接着因子に対するアンタゴニスト (RGD ペプチド) も HT-1080 細胞の Vn への接着を PAI-1 と同程度に抑制し、Vn から Col への遊走を促進させた。また、PAI-2 による遊走能への影響は認められなかった。
- (3) uPA は直接的に HT-1080 細胞の接着や遊走には作用しなかったが、PAI-1 による Vn への接着能の抑

制、及び Vn から Col への遊走能の促進を阻害した。

- (4) フィルター上面を Vn、Col、Fn で被覆し、下面を被覆した Col への遊走を検討すると、HT-1080 細胞と最も親和性の少ない Fn から Col への遊走が最も顕著であった。HT-1080 細胞は相対的に親和性の高い基質へ遊走する性質があると考えられた。

[考察]

HT-1080 細胞は親和性の低い基質から、より親和性の高い基質へ遊走する性質があることが示された。PAI-1 は以前より Vn と結合することが知られており、細胞の接着因子、または uPAR を介した Vn との結合を競合的に阻害するとされる。本研究の結果より、uPAR の関与は否定的で、PAI-1 は HT-1080 細胞の $\alpha_5\beta_1$ インテグリンを介した Vn との接着を阻害することで、相対的に親和性の高くなった Col への遊走を促進させたと考えられた。uPA と複合体を形成した PAI-1 は Vn との結合能を無くすことから、uPA はこれらの PAI-1 の作用を中和しているものと考えられた。PAI-1、及び uPA は生体内で腫瘍細胞の遊走能に対する生理的な調節因子となっていると思われる。腫瘍細胞が周囲組織に浸潤していく際に、分解した細胞外基質を遊走していく過程が必要であると考えられるが、PAI-1 は細胞の遊走を促進させることで細胞浸潤に寄与している可能性が示唆された。また、PAI-2 は細胞移動に影響を及ぼさず、uPA インヒビターとしてのみ作用すると考えられ、悪性疾患の予後良好因子となっているものと思われる。

[結論]

PAI-1 は HT-1080 細胞の $\alpha_5\beta_1$ インテグリンを介した Vn への接着を調節することにより遊走を促進させていると思われる。

論文審査の結果の要旨

腫瘍細胞が細胞外基質を分解し浸潤していく過程に線溶系のプラスミノゲン-プラスミン系が深く関わっている。ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベータ (uPA) には 2 つの生理的インヒビターであるプラスミノゲンアクチベータインヒビター (PAI)-1 及び PAI-2 が存在し、両者は uPA 活性を阻害することで腫瘍細胞の浸潤を抑制すると考えられるが、種々の悪性腫瘍において、PAI-1 濃度が高い症例では予後が悪く、逆に PAI-2 の濃度が高い症例では予後が良いと報告されている。同じ uPA インヒビターであるにも関わらず、予後が異なる理由について完全には解明されていない。そこで、申請者は腫瘍細胞を用いて、その細胞動態に重要である接着能、遊走能に対する PAI-1、PAI-2 の作用の相違を検討し、予後の違いについて考察した。

uPA と uPA receptor (uPAR) の発現が確認できたヒト線維肉腫細胞 (HT-1080) を用いて以下の実験を施行した。

(1) 接着能

96穴プレートに細胞外基質の主要な構成蛋白であるビトロネクチン (Vn)、IV 型コラーゲン (Col)、フィブロネクチン (Fn) で被覆し、 4×10^4 /well の細胞を PAI-1、PAI-2 の存在下で 1 時間培養後、接着細胞数を比較した。

(2) 遊走能

セル・カルチャー・インサートのフィルターの上面、下面を種々の蛋白で被覆し、 5×10^4 /well の細

