

論文審査の要旨

報告番号	総研第 272 号	学位申請者	神野 真幸
審査委員	主査	小澤 政之	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	武田 泰生	副査 古川 龍彦
	副査	原口 みさ子	副査 河原 康一

The Role of Wnt-5a and MMP-2 in Human Glioma

(ヒトグリオーマにおける Wnt-5a と MMP-2 の役割の検討)

グリオーマとはグリア細胞由来の中脳神経系腫瘍であり、これまでに EGFR 増幅、P53 変異、PTEN 変異等の細胞増殖や遺伝子修復に関わる遺伝子異常は多数報告されてきたが、グリオーマの浸潤を制御するシグナルはほとんど明らかとなっていない。Wnt はヒトにおいて 19 種類発見されている分泌糖蛋白質であり、細胞の増殖や分化、運動など様々な細胞機能を制御している。近年、Wnt-5a が PKC や Jun kinase (JNK) を活性化したり、悪性黒色腫、乳がん、肺がんや胃がん等の様々な癌種の進行や細胞運動に関与することや、前立腺癌や肉腫において、Wnt-5a により matrix metalloproteinase (以下 MMP) の分泌が促進され、浸潤活性が上昇していることが報告されている。そこで学位申請者らはグリオーマ細胞株を用いて、発現の高い Wnt ファミリーや MMP ファミリーについて定量し、Wnt による細胞運動能、MMP 発現や酵素活性、さらには浸潤能の変化について比較検討するとともに、Wnt-5a や MMP を阻害することによる浸潤能の変化についても検討した。5 種類のヒトグリオーマ細胞株について Wnt ファミリー、Frizzled ファミリーの発現を定量 PCR 法により測定した。悪性度と Wnt-5a の発現の相関を評価するため、グリオーマ 33 症例から得た腫瘍組織での Wnt-5a と β -catenin の発現を解析した。また細胞運動能や浸潤能と MMP 分泌能を評価するために、それぞれ wound healing assay、migration assay、invasion assay や、ゼラチンを基質として用いる酵素電気泳動法を行った。

その結果、以下の知見を明らかにした。

- 1) 5 種類のヒトグリオーマ細胞株に共通して Wnt-5a の発現が高かった。
- 2) Wnt-5a の発現はグリオーマの WHO グレードと正の相関を示したが、 β -catenin はいずれのグレードでも発現の増強や変化は認められなかった。しかしながら、浸潤能の低いグレード IV の症例では Wnt-5a の発現は低かった。
- 3) グリオーマ細胞株に Wnt-5a ノックダウンや Wnt-5a 蛋白質刺激を行うことで、それぞれ細胞の運動能の低下や上昇が認められ、MMP-2 の mRNA 発現や酵素活性にもそれぞれ低下や上昇が認められた。
- 4) 細胞の浸潤能に関しても、細胞運動能や MMP-2 と同様に Wnt-5a ノックダウンや Wnt-5a 蛋白質刺激を行うことで、それぞれ低下や上昇が認められた。
- 5) MMP-2 の阻害剤を使用すると、Wnt-5a 蛋白質刺激により上昇した浸潤能がほぼ抑えられた。

本研究はヒトグリオーマにおける Wnt-5a と浸潤能の関係について検討した。Wnt-5a の発現はグリオーマの悪性度と相関し、細胞運動と MMP-2 発現量に関与する事を示した。また、Wnt-5a 依存性のグリオーマ細胞の浸潤能は MMP-2 に大きく依存していることを示した。これらの知見は、Wnt-5a のシグナルが今後のグリオーマの治療の標的となる可能性を示唆しており、非常に興味深い。

したがって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。