

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 国 田 朱 子

本研究は転移形成に重要な役割を果たすと考えられる血小板凝集因子 Aggrus の同定およびその腫瘍組織での発現について検討したものである。

Aggrus は、I 型肺胞上皮細胞のマーカーである T1 α またはリンパ管マーカーである podoplanin として知られている分子と同一であった。Aggrus をクローニングし CHO に発現させると血小板凝集誘導活性がみられた。また、Aggrus の血小板凝集活性部位(PLAG domain)を同定した。CHO/WT-Aggrus は実験転移および自然転移を誘導した。また、CHO/WT-Aggrus により誘導される実験転移能は血小板凝集活性のない T34A および T52A 変異体では抑制されていたこと、またアスピリン投与により CHO/WT-Aggrus による実験転移が抑制されたことから Aggrus は血小板凝集を介して転移形成を誘導することが明らかとなった。また、CHO/WT-Aggrus 尾静脈移植マウスは CHO/control 移植マウスと比較して生存率が低く、Aggrus の発現が担癌個体の生命予後不良のマーカーとなる可能性も示唆された。

Aggrus は *in vivo* において血小板凝集活性を有することを、蛍光ラベルした CHO/WT-Aggrus 細胞をマウス尾静脈移植し、30 分後の肺組織を抗血小板抗体(CD41)で蛍光染色することにより証明した。また細胞移植後 30 分後および 6 時間後の肺でトラップされた細胞数は CHO/WT-Aggrus 細胞移植群の方が CHO/control 細胞移植群よりも有意に多かったことから Aggrus は転移プロセスの初期過程、血中での腫瘍細胞の生存に重要であることが示された。

Aggrus は肺扁平上皮癌で発現上昇が認められたが、肺腺がんでの発現は認められず、組織型特異的に発現すると考えられた。肺扁平上皮癌細胞株 H226 において Aggrus の発現が認められた。さらに H226 は血小板凝集誘導活性を有していたが、aggrus siRNA 導入により凝集活性が低下した。つまり H226 により誘導される血小板凝集に Aggrus が重要な役割

を果たすことが示された。大腸癌において Aggrus は RNA レベルで発現上昇が認められたが、これはリンパ管における発現であり癌細胞では Aggrus の発現は認められなかった。つまり大腸癌組織においてはリンパ管の増生が認められた。大腸癌におけるリンパ管の増生とリンパ節転移に相関がみられるか、あるいは Aggrus の発現と大腸癌の予後相関などに関して、今後検討したい。

骨肉腫は高率に肺転移を来し、また骨肉腫細胞株では血小板凝集活性が高いことが報告されていたことから、骨肉腫の肺転移に Aggrus が関係している可能性を考えた。そこで Aggrus 恒常的発現骨肉腫細胞を樹立し特性解析を行った結果、Aggrus は骨肉腫細胞の細胞遊走能を亢進させることが明らかとなった。さらに抗 Aggrus 抗体により Aggrus を内在性に発現する骨肉腫細胞株 U2-OS の細胞遊走能は抑制された。

分子標的としての Aggrus の可能性についても検討した。CHO/WT-Aggrus により誘導される肺転移は抗 Aggrus 抗体(NZ-1)投与により有意に抑制された。また、NZ-1 をペプシンで処理し Fc フラグメントを分解した F(ab')₂によっても抗転移効果が認められた。

本論文は血行性転移に関与する血小板凝集因子 Aggrus の同定および腫瘍組織での発現について検討し、Aggrus が骨肉腫の悪性度に関与する可能性が示唆された。また Aggrus の上流分子についての同定も試みており、これまで未知に等しかった転移形成における血小板凝集機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。