

論 文 要 旨

Filamin C promotes lymphatic invasion and lymphatic metastasis and increases cell motility by regulating Rho GTPase in esophageal squamous cell carcinoma

〔食道扁平上皮癌において FilaminC は Rho GTPase を調節して細胞運動を増加させリンパ管侵襲とリンパ節転移を促進させる。〕

田辺 寛

【序論および目的】

癌は周囲組織に浸潤することや転移を起こす性質を有するため、癌治療は細胞浸潤や転移のメカニズムに着目して行われている。癌細胞の浸潤や転移には細胞運動が重要な役割を担っており、この細胞運動はアクチンフィラメントの重合、脱重合、分枝形成、架橋の変化で起こる。今回、申請者らはアクチンの架橋タンパク質である Filamin ファミリー (FilaminA (FLNA)、FilaminB (FLNB)、FilaminC (FLNC)) の一つである FLNC に着目した。癌における FLNC の役割は未だ不明であり、消化器癌の中で浸潤や転移をきたしやすい食道扁平上皮癌を用いて、FLNC 発現が癌に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

- ① 進行食道扁平上皮癌の切除 75 例について免疫染色で FLNC 発現と臨床病理学的因子の関係について検討した。
- ② 5 種類の FLNCshRNA を用いて、食道扁平上皮癌細胞株 (TE-1, TE-8) にそれぞれ導入し、FLNA、FLNB、FLNC の mRNA とタンパクの発現を確認し、選択的に FLNC 発現のみ低下させる FLNCshRNA を選択した。
- ③ ②で作成したノックダウン細胞株を用いて proliferation assay、wound healing assay、transwell migration and invasion assay を施行し、FLNC が細胞の表現型に与える影響を検討した。
- ④ ②で作成したノックダウン細胞株を用いて Rho activation assay を施行し、FLNC と Rho ファミリー活性化の関係を検討した。

【結 果】

- ① FLNC 高発現群は低発現群と比較して、リンパ管侵襲 (P=0.032) とリンパ節転移 (P=0.032) が有意に高頻度に認められ、ステージに関しては傾向はみられたが、有意差は認められなかった (P=0.051)。その他、性別・組織像・深達度・血管侵襲には有意差はなかった。全生存期間の検討では高発現群は低発現群と比較して有意に予後不良であった (P=0.0135)。
- ② TE-1 では FLNCshRNA1 と FLNCshRNA3 が選択的に FLNC をノックダウンし、TE-8 では FLNCshRNA2 と FLNCshRNA3 が選択的に FLNC をノックダウンした。
- ③ Proliferation assay では、TE1 と TE-8 のノックダウン細胞株とコントロールの間で細胞増殖能はほぼ同等であった。Wound Healing Assay では 2 種類の細胞株で同様の結果が得られ、FLNC

ノックダウン細胞株はコントロールと比較して細胞遊走能が抑制された。Transwell migration and invasion assay でも同様にノックダウン細胞株はコントロールと比較して細胞の遊走能が抑制され、また浸潤能も抑制された。

- ④ 活性型 GTP-RhoA、GTP-Rac1、GTP-Cdc42 の発現の量を western blotting で確認した結果、FLNC ノックダウン細胞株はコントロールと比較して GTP-Rac1 と GTP-Cdc42 が減少していた。

【結論及び考察】

FLNC は FLNA や FLNB と比較して癌に関する報告は少ないため、癌での役割は不明である。申請者らの検討では、FLNC 高発現群は低発現群と比較してリンパ管侵襲やリンパ節転移が高頻度に認められ、予後も不良であった。食道扁平上皮癌ではリンパ節転移は重要な予後不良因子である。したがって、FLNC 発現がリンパ節転移と関連したため予後不良という結果は妥当と考えられた。

in vitro の検討では、FLNC の機能は FLNA と類似し、細胞の遊走能と浸潤能を促進させることが示唆された。FLNA では細胞運動能への影響は Rho GTPase を活性化することで起こると報告されている。Rho GTPase はアクチンフィラメントの制御に重要な役割を担っているが、本研究で FLNC も Rho GTPase を介して細胞運動を増加させていることが示唆された。これらの結果より、FLNC は食道扁平上皮癌のリンパ節転移のバイオマーカーとなりえる可能性があり、FLNC を制御することにより、食道扁平上皮癌のリンパ節転移のコントロールにつながる可能性も示唆された。

(Oncotarget Vol.8,No.4 2017 年 掲載)