

悪性リンパ腫の発生・進展における Wnt シグナル伝達経路のスイッチング

名古屋大学大学院医学系研究科

特任助教 高岸麻紀

1. 研究の背景・目的

細胞外刺激は受容体などを介して細胞内に伝わり、様々なシグナル分子の生化学反応が連鎖的に引き起こされ細胞応答をもたらす。分泌蛋白 Wnt と受容体 Fzd による細胞内シグナル伝達を Wnt シグナルと呼ばれる。胃がんなどの発生時には Wnt シグナル古典的経路 (β -catenin 経路) によって細胞増殖が促され、がんの進展時には非古典的経路 (β -catenin 非依存的経路) によってがん細胞の移動や転移が促進されると考えられている (Acta Physiol. 2012)。

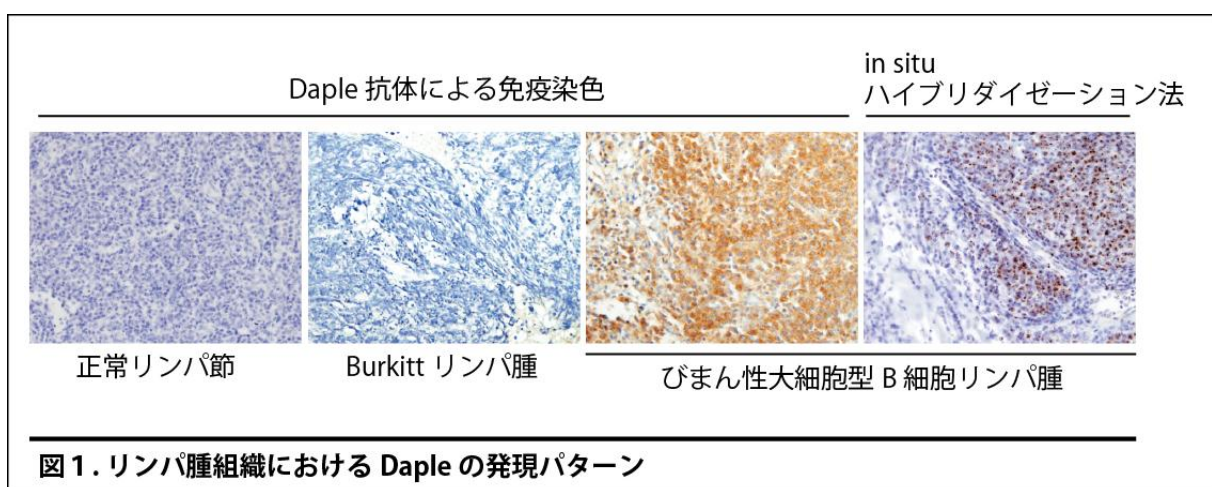
□ 細胞内タンパク質 Daple は、Wnt シグナル古典的経路を抑制し、非古典的経路を促進している (文献1)。Daple タンパク質の高発現は胃がん細胞の細胞骨格を再編成して運動能を上げることで、がん細胞を浸潤しやすくする (文献2) ことから、Daple はがんの進展をもたらす機能があると考えられる。一方、Daple ががんの発生にどのように関与するのかはわかっていない。本研究では、データベース上 Daple の発現が高かった悪性リンパ腫において、Daple 発現パターンや Wnt シグナル活性化経路を調べ、病型や進行度によって Daple の発現と Wnt シグナルの活性化経路が相関するのかを解明する。

2. 研究の対象ならびに方法

市販の組織アレイや病理組織標本を用いて、悪性リンパ腫組織での Daple, β -catenin, Wnt5a などの免疫染色や *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、Wnt シグナルの活性化パターンと Daple の発現パターンを調べる。それらと悪性リンパ腫の病型や病期との関連を解析する。また、幾つかのリンパ腫細胞株を集めて Daple 発現パターンを調べ、過剰発現または発現抑制によって、細胞増殖能を評価する。

3. 研究結果

当該年度は生命倫理委員会の申請が間に合わなかったため、患者検体は用いず、市販の組織アレイで免疫染色を行った。その結果、Daple は正常のリンパ節や Burkitt リンパ腫では発現が低く、びまん性大細胞型リンパ腫にて発現が高く見られた。しかし、びまん性大細胞型リンパ腫では間質や周囲の正常部位での陽性像が多く、非特異的反応が疑われたため、*in situ*ハイブリダイゼーション法でDapleの発現をmRNA レベルで確認した(図1)。その結果、びまん性大細胞型リンパ腫にて、mRNA レベルでも腫瘍細胞特異的にDaple の発現が確認できた。



一方、悪性リンパ腫細胞株の Daple 発現レベルをウェスタンブロッティングで確認し、3種類の大細胞型リンパ腫細胞株にて Daple 高発現を検出できた。これらの Daple 発現を抑制して増殖能を解析するため、レトロウイルスにて発現する Daple shRNA 発現ベクターを作成した。

4. 考察

データベースの結果とは異なり、Burkitt リンパ腫での Daple の発現が低かったことから、すべての悪性リンパ腫にて Daple が発現しているわけではなく、病型によって Daple の発現が異なることが考えられる。Daple は非古典的経路にスイッチすることから、Daple の発現が低い Burkitt リンパ腫では、Wnt シグナル非古典的経路の低下と古典的経路の活性が見込まれる。今後、組織検体の数を増やして病型と Daple の発現や Wnt シグナルの活性化パターンが相関するのか検証していく。

5. 文献

1. A. Kikuchi, H. Yamamoto, A. Sato, and S. Matsumoto. 「Wnt5a: its signalling, functions and implication in diseases.」『Acta Physiol (Oxf)』 2012.
2. M. Ishida-Takagishi , A. Enomoto, N. Asai, *et al.* 「The Dvl-associating protein Daple controls the non-canonical Wnt/Rac pathway and cell motility」『Nature Communications』 vol.3, sp89, 2012.
3. H. Ara, M. Takagishi, A. Enomoto, *et al.* 「A role for Daple in non-canonical Wnt signaling during gastric cancer invasion and metastasis」『Cancer Science』 2015.