

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591857

研究課題名（和文）癌増殖・浸潤・転移における Actinin4 系の分子機構について

研究課題名（英文）The molecular mechanism of Actinin-4 in proliferation, invasion and metastasis of cancer

研究代表者

中達 弘能（NAKATSUJI HIROYOSHI）

徳島大学・病院・助教

研究者番号：50437638

研究成果の概要（和文）：

浸潤性膀胱がん細胞株、組織において、mRNA レベル、タンパクレベルで actinin-4 の高発現が認められた。siRNA actinin-4 を用いたノックダウンにより、浸潤能が抑制されたが、増殖能は抑制されなかったことより、actinin-4 は浸潤能への関与が示唆された。Actinin-4 が細胞膜ヘリクルートされず、細胞質に集積することが、腫瘍の浸潤、転移に関与していることが示唆される。

研究成果の概要（英文）：

Actinin-4 mRNA and protein levels are elevated in bladder cancer cells lines that exhibit increased growth and invasion activity. In addition, actinin-4 knockdown inhibited invasion of bladder cancer cells, but did not alter their growth. In conclusion, we hypothesize that the accumulation of actinin-4 in the cell cytoplasm, rather than its recruitment to the cell membrane, is related to an increased susceptibility of tumor invasion and metastasis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・腫瘍学

キーワード：Actinin4・泌尿器癌・浸潤

1. 研究開始当初の背景

細胞骨格系のアクチンを束状化する機能を有する actinin-4 は細胞運動能の亢進にも関与していることが認識されており、癌細胞

の運動能亢進と転移に関わる研究が進められている。様々な癌種で発現の異常や細胞内局在の異常が報告され、actinin-4 の細胞接着への関与も示唆されていた。

2. 研究の目的

泌尿器癌の浸潤・転移における actinin-4 の役割を癌細胞接着の脆弱化、癌細胞運動能の亢進の両観点から、検討しその分子機構を明らかにする。

3. 研究の方法

正常膀胱細胞株、膀胱がん細胞株、正常膀胱組織、膀胱がん組織を用いて、リアルタイム PCR、ウエスタンブロット、免疫染色を行い、actinin-4 の発現および局在を検討した。

Actinin-4 の高発現していた膀胱がん細胞株を siRNA actinin-4 を用い、actinin-4 のノックダウンを行い、機能解析(増殖アッセイ、浸潤アッセイ、wound healing assay)を行った。

In vivo 実験：マウスに移植した腫瘍に siRNA actinin-4 を局所投与し、actinin-4 をノックダウンすることでの、腫瘍抑制効果、生存期間につき検討を行った。

Actinin-4 は主にアドヘレンスジャンクションの細胞質側の因子であるが、デスモゾームの細胞質側因子である Plakophilin についても同様の検討を行った。

4. 研究成果

浸潤性膀胱がん細胞株、組織で、mRNA レベル、タンパクレベルで actinin-4 の高発現が認められた。正常膀胱細胞、組織では actinin-4 は細胞膜に局在し、cell-cell junction の形成に関与していると思われる。浸潤性膀胱がん細胞、組織では細胞膜にリクルートされず、細胞質または leading edge に局在し、これは

cell-cell junction の形成に作用できず、接着能が低下し、また運動能亢進に寄与していると考えられる。

siRNA actinin-4 のノックダウンにより、浸潤能、運動能が抑制されたが、増殖能は抑制されなかったことより、actinin-4 は浸潤能、運動能への関与が示唆された。

ルシフェラーゼベクターを導入した膀胱がん細胞株をマウスに移植し、その後形成された腫瘍に siRNA actinin-4 (in vivo 用) をアテロジーン (in vivo 用トランスフェクション試薬) を用い、局所投与した。腫瘍抑制効果は、有意差がでなかったが、siRNA actinin-4 投与群では生存率の有意な延長が認められた。

Plakophilin に関して

発現量に関して Plakophilin2 では actinin-4 とほぼ同様の結果が、Plakophilin3 では正反対の結果が得られた。

局在に関して Plakophilin2,3 とともに actinin-4 と同様に浸潤性膀胱がん細胞、組織では細胞膜にリクルートされず、細胞質または leading edge に局在していた。

siRNAPlakophilin2,3 を用いてノックダウンして機能解析した結果、Plakophilin2 では actinin-4 と同様に浸潤能、運動能が抑制されたが、増殖能は抑制されなかった。

Plakophilin3 では actinin-4 とは逆に浸潤能、運動能は亢進し、増殖能は抑制されなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 15 件)

1. Miyao N, Naito S, Ozono S, Shinohara N, Masumori N, Igarashi T, Nakao M, Tsushima T, Senga Y, Horie S, Kanayama H, Tokuda N, Kobayashi M
Late Recurrence of Renal Cell Carcinoma: Retrospective and Collaborative Study of the Japanese Society of Renal Cancer Oncology 77; 3779-3874 2011 (査読有)
2. A Shiirevnyamba, T Takahashi, H Shan, H Ogawa, S Yano, H Kanayama, K Izumi, H Uehara
Enhancement of osteoclastogenic activity in osteolytic prostate cancer cells by physical contact with osteoblasts
British Journal of Cancer 104; 505-513 2011 (査読有)
3. Miyao N, Naito S, Ozono S, Shinohara N, Masumori N, Igarashi T, Nakao M, Tsushima T, Senga Y, Horie S, Kanayama H, Tokuda N, Kobayashi M
Late Recurrence of Renal Carcinoma: Retrospective and Collaborative Study of the Japanese Society of Renal Cancer UROLOGY 77 · 2; 379-384 2011 (査読有)
4. Koizumi T, Hiroyoshi Nakatsuji, Tomoya Fukawa,
Shiirevnyamba Avirmed, Tomoharu Fukumori Masayuki Takahashi, and Hiroomi Kanayama
The Role of Actinin-4 in Bladder Cancer Invasion
UROLOGY 75; 357-364 2010 (査読有)
5. Sakaki M, Tomoharu Fukumori, Tomoya Fukawa, Essam Elsamman, Avirmed
Shiirevnyamba, Hiroyoshi Nakatsuji, Hiro-omi Kanayama
Clinical significance of Galectin-3 in clear cell renal cell carcinoma
The Journal of Medical Investigation 57 · 1, 2; 152-157 2010 (査読有)
6. Nakanishi R, Oka N, Nakatsuji H, Koizumi T, Sakaki M, Takahashi M, Fukumori T, Kanayama H
Effect of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor Inhibitor on Proliferation and Invasion in Bladder Cancer
Urologia Internationalis 83; 98-106 2009 (査読有)
7. Tanimoto S, Fukumori T, Gad El-Moula, Shiirevnyamba A, Kinouchi S, Koizumi T,
Nakanishi R, Yamamoto Y, Taue R, Yamaguchi K, Nakatsuji H, Kishimoto T, Izaki H, Oka N, Takahashi M, Kanayama H
Prognostic significance of serum hepatocyte growth factor in clear cell renal cell carcinoma : comparison with serum vascular endothelial growth factor
The Journal of Medical Investigation 55; 106-111 2008 (査読有)
8. Sakaki M, Oka N, Nakanishi R, Yamaguchi K, Fukumori T, Kanayama H
Serum level of galectin-3 in human bladder cancer
The Journal of Medical Investigation 55; 127-132 2008 (査読有)
9. Katto K, Masayuki Takahashi, Ryuichi Taue, Hiroyoshi Nakatsuji, Tomoteru Kishimoto, Hirofumi Izaki, Natsuo Oka, Tomoharu Fukumori, Masa-Aki Nishitani, Hiro-Omi Kanayama
Strategy for repeat prostate biopsy: predictors of positive biopsy and additional biopsy location.
Urol Int 81; 173-178 2008 (査読有)
10. Takahashi M, Kurokawa Y, Nakanishi R, Nakatsuji H, Izaki H, Oka N, Fukumori T, Kanayama H
Laparoscopic findings of transverse testicular ectopia.
Urology 71. 3; 547. e3-5 2008 (査読有)
11. Nakatsuji H, Noriyuki Nishimura, Rie Yamamura, Hiro-omi Kanayama, Takuya Sasaki
Involvement of actinin-4 in the recruitment of JRAB/MICAL-L2 to cell-cell junctions and the formation of functional tight junctions.
Mol Cell Biol 28. 10; 3324-3335 2008 (査読有)
12. Yamamura R, Noriyuki Nishimura, Hiroyoshi Nakatsuji, Seiji Arase, Takuya Sasaki
The Interaction of JRAB/MICAL-L2 with Rab8 and Rab13 Coordinates the Assembly of Tight Junctions and Adherens Junctions.
Mol Biol Cell 19. 3; 971-983 2008 (査読有)
13. Kanda I, N Nishimura, H Nakatsuji, R Yamamura, H Nakanishi, T Sasaki
Involvement of Rab13 and JRAB/MICAL-L2 in epithelial cell scattering.
Oncogene 27. 12 1687-1695 2008 (査読有)

14. Essam Elsamman, Ashraf A. Ewis, Nermin Ali, Mohamed D. Saleem, Mohamed Gadelmoula, Yoshinobu Baba, Hiro-omi Kanayama
Molecular Analysis of Transitional Cell Carcinoma of Upper Urinary Tract Using cDNA Microarray
ARAB Journal of Urology 6.1;48-55 2008 (査読有)

15. Muguruma H, Kawanishi Y, Sugiyama H, Kagawa J, Tanimoto S, Yamanaka M, Kojima K, Anzai H, Numata A, Kishimoto T, Kanayama H
Effect of aldosterone on isolated human penile corpus cavernosum tissue
BJU International 102;500-503 2008 (査読有)

[学会発表] (計 7 件)

1. 中達弘能
HGF による膀胱がん浸潤亢進における Toll like receptor 4 (TLR4) の関与
泌尿器科分子・細胞研究会 三重県
2011.3.12

2. 中達弘能
膀胱癌浸潤におけるプラコフィリン2の関与
日本泌尿器科学会総会 盛岡市 2010.4.30

3. 中達弘能
膀胱がん浸潤におけるプラコフィリン2の関与
泌尿器科分子・細胞研究会 神戸
2010.2.20

4. 中達弘能
膀胱がん浸潤におけるプラコフィリンの関与
中国四国泌尿器科悪性腫瘍研究会 岡山
2010.2.13

5. 中達弘能
浸潤性膀胱癌細胞におけるアクチニン-4の関与
泌尿器科分子・細胞研究会 鹿児島市
2009.2.14

6. Takahashi M
Evaluation of different subtypes of renal tumors on double-phase helical CT
AUA Chicago 2009.4.27

7. Fukumori T
Galectin-3 is overexpressed in renal cell carcinoma and it regulates immune suppression through the induction of apoptosis of T cells

AUA Florida 2008.5.18

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
- (1) 研究代表者
中達弘能 (NAKATSUJI HIROYOSHI)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：50437638
- (2) 研究分担者
金山博臣 (KANAYAMA HIRO-OMI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：10214446
高橋正幸 (TAKAHASHI MASAYUKI)
徳島大学・病院・講師
研究者番号：50325255
福森知治 (FUKUMORI TOMOHARU)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・講師
研究者番号：10314874
- (3) 連携研究者
無