

肝細胞癌再発を認めた。その内他部位再発をきたした患者は 95 人、局所再発をきたした患者は 29 人、他部位及び局所両再発をきたした患者は 5 人であった。累積局所再発率は、1 年再発率 9.0%、3 年再発率 14.1%、3 年再発率 17.7%であった。5 年生存率に関しては、局所再発を認めた患者群 (42.1%)よりも局所再発を認めなかった患者群(84.8%)が有位に優れていた (P=0.0002)。全患者の術後予後不良因子を Cox 比例ハザードモデルを用いて解析したところ、血清アルブミン低値 (3.5g/dl 未満)・腫瘍マーカーの中でも PIVKA-II の高値(100mAU/ml 以上)・多発肝癌・局所再発有りの 4 つの因子が示された。

【考察および結語】

局所再発は RFA 後に腫瘍近傍に認められる再発形式であり、RFA による早期肝癌患者の生存率に関して、局所再発の有無が重要な予後規定因子であった。

局所再発の原因として遺残の他に微小血管浸潤や衛星結節(肝内転移)などが挙げられ、最大径 2cm を超える腫瘍で risk が高まるとの報告がある。

しかし、CT や MRI による satellites や微小血管浸潤の判断はしばしば困難であり、効果判定 RFA 後の効果判定の際にて完全焼灼と判断される場合にも、局所再発をきたし得る risk がある。

Child-Pugh stage A の初発肝細胞癌患者に対するラジオ波焼灼術後の予後には局所再発の有無が寄与しており、生存率改善のためには、局所再発抑制のために腫瘍に対して十分な safety margin を確保した完全焼灼を徹底する必要があることが示唆された。

本論文は Oncology(Impact factor 2.44)の 2007 年 12 月に掲載され、学位授与に値する論文と考える。

氏名	濱口 満 英
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医第 981 号
学位授与の日付	平成 21 年 3 月 21 日
学位授与の要件	学位規程第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Molecular basis of actin reorganization promoted by binding of enterohaemorrhagic Escherichia coli EspB to $\alpha$ -catenin (腸管出血性大腸菌 EspB に依存したアクチン再構築の分子機構)
論文審査委員 (主査)	教授 坂田 育弘
(副主査)	教授 竹村 司
(副主査)	教授 義江 修

論文内容の要旨

【目的】

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症は溶血性尿毒症症候群 (HUS) をはじめとする重篤な合併症を引き起こすことがある。EHEC のメカニズムを解明することは、医学にとって重要な課題の一つである。

EHEC は Type III 分泌系を介して、腸管上皮細胞に接着し上皮細胞内でのシグナル伝達、アクチン再構築を伴う病変 (attaching and effacing lesion) を引き起こす。EspB は EHEC の産する病原因子の一つであり、EspD と複合体を形成し、宿主細胞膜上に孔形成する。さらに EspB は、Type III 分泌系を介して、宿主細胞質に注入され、アドヘレンス・ジャンクション (AJ) に関与する  $\alpha$ -カテニン C 末端ドメインと結合し、細菌感染間のアクチン再構築に関与すると考えられている。一方、最近、 $\alpha$ -カテニンの単量体が、AJ に存在する E-カドヘリン /  $\beta$ -カテニンと三者の複合体を形成しているが、二量体化することにより、この複合体から解離しアクチンのバンドル形成を促進することが明らかにされている。

本研究では、EspB の  $\alpha$ -カテニンへの結合による、アクチン再構築促進の分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

超遠心分離、ピレン・アクチン重合、透過型電子顕微鏡 (TEM) などの生化学的解析を用いた。

【結果】

EspB が、 $\alpha$ -カテニンと結合することで E-カドヘリン /  $\beta$ -カテニン複合体からの  $\alpha$ -カテニンの解離が促進され、その結果、 $\alpha$ -カテニンによるアクチンのバンドル形成作用が促されることが分かった。さらに、Arp2/3 依存的なアクチン重合を抑制する  $\alpha$ -カテニンの作用を EspB が促進することにより、アクチンのバンドル化が進行することを TEM で確認した。

【考察】

EspB を介したアクチン再構築の詳細な分子機構が明らかになった。しかしながら、EspB が産する他の病原因子のアクチン再構築への寄与も示されており、これらの因子の相互関係をさらに調べることは、EHEC 感染機構全体を把握する上で重要な今後の課題である。

【結論】

EspB の  $\alpha$ -カテニンへの結合による、アクチン再構築促進の分子機構が証明された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2008 年 12 月 日 公表予定	出版物名 FEBS Journal Vol.275, No.24
	公 表 内 容	2008 年 12 月 日 発行予定
	全 文	

論文審査結果の要旨

【目的】

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症は溶血性尿毒症症候群 (HUS) をはじめとする重篤な合併症を引き起こすことがある。EHEC のメカニズムを解明することは、医学にとって重要な課題の一つである。

EHEC は Type III 分泌系を介して、腸管上皮細胞に接着し上皮細胞内でのシグナル伝達、アクチン再構築を伴う病変 (attaching and effacing lesion) を引き起こす。EspB は EHEC の産する病原因子の一つであり、EspD と複合体を形成し、宿主細胞膜上に孔形成する。さらに EspB は、Type III 分泌系を介して、宿主細胞質に注入され、アドヘレンス・ジャンクション (AJ) に関与する  $\alpha$ -カテニン C 末端ドメインと結合し、細菌感染間のアクチン再構築に関与すると考えられている。一方、最近、 $\alpha$ -カテニンの単量体が、AJ に存在する E-カドヘリン /  $\beta$ -カテニンと三者の複合体を形成しているが、二量体化することにより、この複合体から解離しアクチンのバンドル形成を促進することが明らかにされている。

本研究では、EspB の  $\alpha$ -カテニンへの結合による、アクチン再構築促進の分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

超遠心分離、ピレン・アクチン重合、透過型電子顕微鏡 (TEM) などの生化学的解析を用いた。

【結果】

EspB が、 $\alpha$ -カテニンと結合することで E-カドヘリン /  $\beta$ -カテニン複合体からの  $\alpha$ -カテニンの解離が促進されることを GST-pull down assay にて確認した。また、超遠心分離にて EspB が  $\alpha$ -カテニンとアクチンの結合を強めていることが分かった。実際に、アクチン線維の形態を TEM にて確認した。アクチン + Arp2/3 + WASp-VCA +  $\alpha$ -catenin の条件下では branching 構造を認めるが、アクチン + Arp2/3 + WASp-VCA +  $\alpha$ -catenin + EspB の条件下では bundling 構造を認めた。この結果より Arp2/3 により Arp2/3 依存的なアクチン重合を抑制する  $\alpha$ -カテニンの作用を EspB が促進することにより、アクチン線維の bundling 形成が進行することが確認できた。

【考察】

EHEC は Type III 分泌系を介して、腸管上皮細胞に接着し上皮細胞内でのシグナル伝達、アクチン再構築を伴う病変 (attaching and effacing lesion) を引き起こす。この過程において EspB を介したアクチンが再構築 (bundling) して台座様構造が形成されることが考えられた。しかしながら、EHEC が産する他の病原因子のアクチン再構築への寄与も示されており、これらの因子の相互関係をさらに調べることは、EHEC 感染機構全体を把握する上で重要な今後の課題である。

【結論】

EspB の  $\alpha$ -カテニンへの結合による、アクチン再構築促進の分子機構が証明された。

尚、本論文は FEBS Journal (Volume 275 Issue 24, 2008) に掲載された。