



Estradiol promotes rapid degradation of HER3 in ER-positive breast cancer cell line MCF-7

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2018-12-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 須賀, 淳子 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000241

論文内容を要約したもの

学位論文題名	Estradiol promotes rapid degradation of HER3 in ER-positive breast cancer cell line MCF-7. (エストロゲン受容体陽性乳癌細胞 MCF-7 におけるエストロゲン刺激は HER3 分解を亢進する)
体内のタンパク質は、合成と分解のバランスにより恒常性が維持・調節されている。タンパク質の分解経路には、選択的に標的タンパク質を分解するユビキチン・プロテアソーム系と、非選択的に分解するリソソーム系が知られている。これらの分解経路に破綻が生じるとタンパク質の異常蓄積が起こり、癌や神経変性疾患などの難知性疾患の発症原因となることが明らかとなってきた。 我々は、乳癌において腫瘍の悪性度に関与するタンパク質 HER3 に着目した。HER3 は HER ファミリーに属す受容体チロシンキナーゼであり、これまで 4 分子 (HER1、HER2、HER3 および HER4) が同定されている。これら HER ファミリーを含む膜タンパク質の多くは、ユビキチン・プロテアソーム系により分解制御されると報告がある。特にユビキチンリガーゼ(E3)が選択的にターゲットタンパク質をユビキチン化することでタンパク質の分解量が調節されている。HER3は、そのリガンドである HRG-1 刺激下でユビキチンリガーゼ Nrdp1、Nedd4-1、Itch によりプロテアソーム系で選択的に分解されることが知られている。 本研究では、乳癌における HER3 の分解調節機構とこれに関連する因子の解明を目的に実験を計画した。まず各サブタイプの代表的乳癌細胞株である MCF-7、BT474、SKBR3、MDA-MB231 を用いて HER3 の内因性発現を確認したところ、ER 陽性細胞である MCF-7 において HER3 の高発現が認められた。ER 陽性乳癌において最も重要な増殖因子である、エストロゲン刺激 (0.1nM、1nM、10nM) 下でサイクロヘキシミド (CHX) による分解実験を行ったところ、1nM のエストロゲン濃度で HER3 の分解効率が最も亢進し、半減期はコントロールの 4.8 時間から 2.5 時間へ短縮した。また、酵素阻害実験からエストロゲン刺激時の HER3 の分解経路はプロテアソーム系であると同定した。この分解には、既知のユビキチンリガーゼ Nrdp1、Nedd4-1、Itch のいずれかが関わっていると考え、MCF-7 での内因性発現を検討したところ Nedd4-1 のみ発現を認めた。そこで sh-RNA により Nedd4-1 をノックダウンしたところ、エストロゲン刺激時の HER3 分解効率亢進が消失することから、Nedd4-1 を制御因子と同定した。またエストロゲン刺激による ER の分解も Nedd4-1 によって制御されることを確認した。次に ER を si-RNA によりノックダウンしたところ、コントロール、エストロゲン刺激下の双方で HER3 の分解が亢進した。最後に Nedd4-1 ノックダウン MCF-7 における増殖活性をみたところ、コントロール細胞に比較し有意に増殖活性が亢進していた。 これらの結果から ER 陽性乳癌細胞株 MCF-7 では、ER が HER3 の分解を抑制しており (本研究では実証できていないがおそらく直接会合によって)、エストロゲン刺激下では ER	

が急速に分解されることにより、HER3 の分解効率も亢進すると考えられた。また、この両者の分解効率をユビキチンリガーゼである Nedd4-1 が制御しており、これら分解機構への影響を通じて癌細胞の悪性度に関与していることが示唆された。本研究は乳癌細胞における ER と HER3 の相互作用を分解機構という点で検証した初めての報告である。さらに、この分解機構に関わる Nedd4-1 の臨床的意義や治療標的としての可能性を今後検証していきたい。

学位論文審査結果報告書

平成 30 年 7 月 6 日

大学院医学研究科長 様

下記の通り学位論文の審査を終了しましたので報告いたします。

【論文審査要旨】

氏 名:須賀淳子

学位論文題名: Estradiol promotes rapid degradation of HER3 in ER-positive breast cancer cell line MCF-7 (エストロゲン受容体陽性乳癌細胞 MCF-7 におけるエストロゲン刺激は HER3 分解を亢進する).

本論文は、ER(エストロゲン受容体)陽性乳癌細胞株 MCF-7 を用いて、ER と細胞受容体型チロシンキナーゼである HER3(ヒト上皮増殖因子受容体 type3)の分解調節機構を検討した基礎的研究である。ユビキチンリガーゼである Nedd4-1 が ER および HER3 の分解効率を制御し、癌細胞の悪性度に関与することを示唆するなど学位論文としての十分な新規性を有していると考ええる。

学位論文審査会では、HER3 分解能の評価として行った cycloheximide chase assay の妥当性、HER3 分解経路の評価として行った epoxomicin や chloroquine による酵素阻害実験の妥当性、臨床検体における HER3 と Nedd4-1 の意義、ホルモン療法剤による ER シグナル抑制下における HER3 シグナルの変化機序、そのほか図表や本文に関する細かい修正点など、いくつかの問題点が指摘された。

各指摘に対し本論文が適正に修正されたことを、全審査委員で確認した。今後は ER および HER3 の分解調節機構に関わるユビキチンリガーゼの新たな臨床的意義や治療標的分子マーカーとしての研究発展も期待される。以上より、申請者は本学学位授与に価することを認めるものである。

論文審査委員	主査	乳腺外科学講座	大竹 徹
	副査	解剖・組織学講座	和栗 聡
	副査	細胞化学研究部門	和田郁夫