



過剰なクロードイン-4シグナルは乳癌細胞株の悪性 形質を促進する

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2020-04-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村上, 祐子 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000296

論文内容要旨

しめい 氏名	村上 祐子
学位論文題名	過剰なクロードイン-4 シグナルは乳癌細胞株の悪性形質を促進する
はじめに 細胞間接着分子クロードイン(CLDNs)ファミリーは正常および腫瘍組織において様々な細胞機能を制御するが、その分子機構については長い間不明であった。杉本らは最近、CLDN6を起点とするシグナルがレチノイン酸受容体γ (RARγ)およびエストロゲン受容体α (ERα)のリン酸化に至る「細胞接着－核内受容体シグナル伝達経路」を発見した(Sugimoto et al., 2019)。本研究では、CLDN6と進化的に近縁でかつ乳がんの予後不良因子の可能性が指摘されているCLDN4に着目し、乳がん悪性形質制御機構と臨床病理学的意義を検討した。 材料・方法 CLDN4陽性ヒト乳癌細胞株MCF-7とT47Dに対してCRISPR-Cas9によるゲノム編集でCLDN4遺伝子ノックアウト細胞を樹立し、CLDN4が増殖能や遊走能などのがん悪性形質に与える影響を評価した。またCLDN4シグナルの下流経路としてSFK/AKTの関与を検討した。さらにCLDN4シグナルに必要なドメインやアミノ酸を特定するため、CLDN4遺伝子ノックアウト細胞に対してCLDN4変異体	

を導入するとともに、野生型細胞株に対してCLDN4の第二細胞外ドメイン対合阻害実験を行った。またRNAシーケンス法によって野生株とCLDN4遺伝子ノックアウト細胞株のトランスクリプトームを比較するとともに、RT-qPCR法で肝臓X受容体(Liver X Receptors; LXRs)標的遺伝子の発現を調べた。加えてCLDN4陰性ヒト乳癌細胞株MDA-MB-231に対してレンチウイルスベクターによってCLDN4を過剰発現させ、悪性形質を評価した。

次に福島県立医科大学附属病院乳腺外科で手術した乳癌検体227例を対象とし、免疫組織化学染色によりCLDN4発現を半定量化し臨床病理学的因子との相関を解析した。

結果・考察

CLDN4はエストロゲン等の脂溶性リガンド非依存性にヒト乳癌細胞株の悪性形質を促進することが明らかになった。またCLDN4シグナルは第二細胞外ドメインとC末端細胞内ドメインおよび第197チロシン残基に依存して、SFK/AKT経路を活性化し乳癌細胞の増殖能を亢進した。トランスクリプトーム解析では、CLDN4によって正に発現制御されるがん悪性形質関連遺伝子が抽出されER α とLXRsの標的遺伝子群が含まれていた。またRT-qPCR法により、3種類のLXR β 標的遺伝子の発現に有意な変動を認めた。臨床病理学的解析では、CLDN4高発現群は単独では乳がん患者の予後や臨床病理学的因子とは関連を示さず、CLDN4発現とER α 発現を組み合わせても乳がん患者の生命予後に差は認められなかった。一方でCLDN4陽性かつLXR β 高発現群が予後不良である可能性が示唆された。

今後は乳がんにおけるCLDN4とLXR β の関連性とその機能解析を行い，さらに臨床病理学的意義を明らかにすることが課題である．

結語

本研究では複数のヒト乳癌細胞株を用いてCLDN4の機能欠失・獲得実験を行い，CLDN4シグナルがSFK/AKT経路を介して乳がん悪性形質を増強することを見出した．またこのCLDN4/SFK/AKTシグナルはLXR β に帰結し標的遺伝子発現を制御することでがん悪性形質を促進する可能性が示された．CLDN4からLXR β に至るシグナル経路は乳がんの新たなバイオマーカーや治療標的として有用となる可能性があり，今後も詳細な検討を重ねる必要がある．

(1199/1200 字)

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

学位論文審査結果報告書

令和2年1月7日

大学院医学研究科長 様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

審査結果要旨

氏名 村上 祐子

学位論文題名 過剰なクロードイン-4 シグナルは乳癌細胞株の悪性形質を促進する

様々な細胞機能を制御する細胞間接着分子クロードイン(CLDNs)ファミリーについて、最近 CLDN6 を起点とするレチノイン酸受容体 γ (RAR γ)およびエストロゲン受容体 α (ER α)のリン酸化に至る「細胞接着-核内受容体シグナル伝達経路」が報告された。本研究では、CLDN6 と進化的に近縁でかつ乳がんの予後不良因子の可能性が指摘されている CLDN4 に着目し、乳がん悪性形質制御機構と臨床病理学的意義を検討している。

申請者は複数のヒト乳癌細胞株を用いて CLDN4 の機能欠失・獲得実験を行い、CLDN4 シグナルが第二細胞外ドメインと C 末端細胞内ドメインおよび第 197 チロシン残基に依存して、SFK/AKT 経路の活性化を介して乳がん悪性形質を増強することを見出した。さらにトランスクリプトーム解析で、CLDN4 によって正に発現制御されるがん悪性形質関連遺伝子群に ER α と LXRs の標的遺伝子群が含まれており、ER α と LXRs の標的遺伝子群の発現の検討から CLDN4/SFK/AKT シグナルは LXR β に帰結し標的遺伝子発現を制御することとでがん悪性形質を促進する可能性を示した。

一方臨床病理学的解析では、CLDN4 は単独では乳がん患者の予後や臨床病理学的因子とは関連を示さなかった。

臨床検体では、CLDN4 と悪性形質・予後との関連は得られなかったが、乳癌細胞株において CLDN4 が悪性形質を促進する事をつきとめ、その細胞内経路の可能性について検討し、CLDN4 から LXR β に至るシグナル経路は乳がんの新たなバイオマーカーや治療標的として有用となる可能性を示した。以上から学位に値すると判断する。

論文審査委員 主査 橋本優子
副査 関口美穂
副査 添田 周