

令和 4年 2月

松重貴大 学位論文審査要旨

主 査 北 村 幸 郷
副主査 小 谷 勇
同 梅 北 善 久

主論文

Investigation of the subcellular localization-dependent anti- or pro-tumor functions of maspin in human lung adenocarcinoma cell line

(ヒト肺腺癌細胞株におけるmaspinの細胞内局在に依存した腫瘍抑制能および腫瘍促進能の解析)

(著者：松重貴大、坂部友彦、梅北善久)

令和3年 Yonago Acta Medica doi:10.33160/yam.2022.02.006

参考論文

1. Detection of disease-specific fusion genes of soft tissue tumors using formalin-fixed paraffin-embedded tissues; Its diagnostic usefulness and factors affecting the detection rates

(ホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いた軟部腫瘍の融合遺伝子検出の検討；診断的有用性と検出率に影響を及ぼす因子)

(著者：松重貴大、桑本聡史、松下倫子、Lusi Oka Wardhani、堀江靖、林一彦、北村幸郷)

平成31年 Yonago Acta Medica 62巻 115頁～123頁

学位論文要旨

Investigation of the subcellular localization-dependent anti- or pro-tumor functions of maspin in human lung adenocarcinoma cell line

(ヒト肺腺癌細胞株におけるmaspinの細胞内局在に依存した腫瘍抑制能および腫瘍促進能の解析)

Maspinは様々な癌の腫瘍抑制遺伝子として知られているが、その腫瘍抑制機能にはmaspinの核への局在が不可欠であるとされている。先行研究では肺腺癌患者において細胞質のみにmaspinの発現を示す症例は予後不良と有意に相関を示すことを報告した。本研究では、肺腺癌におけるmaspin発現とその細胞内局在が腫瘍の制御機能にどのように関与しているかを明らかにするために、肺腺癌細胞株を用いた機能解析を行った。

方法

始めに、肺腺癌細胞株4種類 (A549、PC-9、NCI-H23、RERF-LC-KJ) と正常ヒト気道上皮細胞株BEAS-2Bを用いてmaspinのmRNA発現、タンパク発現、細胞内局在を確認した。次に、maspin非発現株 (A549) とmaspin低発現株 (RERF-LC-KJ) を用いてmaspin安定発現株 (A549-maspin、RERF-LC-KJ-maspin) を樹立し、これらの細胞株におけるmaspinの細胞内局在とinvasion assayを用いた浸潤能について解析を行った。さらに、これらの安定発現株における上皮細胞マーカー (E-カドヘリン) と間葉系細胞マーカー (N-カドヘリン、ビメンチン) のmRNA発現を比較した。

結果

PC-9のmaspin発現はmRNA発現、タンパク発現ともに高発現を示し、BEAS-2Bと同程度の発現を示した。PC-9でのmaspin細胞内局在もBEAS-2Bと同様に、細胞質と核の両方で確認された。また、RERF-LC-KJは低発現を示し、A549とNCI-H23ではmaspin発現は検出されなかった。安定発現株におけるmaspin細胞内局在の検討では、A549-maspinでは核と細胞質の両方に発現しているpancellularの発現形態を示したのに対して、RERF-LC-KJ-maspinでは細胞質のみにmaspinが発現しているcytoplasmicの発現形態を示していた。これらの細胞株についてinvasion assayを行ったところ、pancellularを示すA549-maspinはcontrol株と比較して細胞浸潤能が有意に抑制されていた。対照的に、cytoplasmicを示すRERF-LC-KJ-maspinではcontrol株と比較して有意に細胞浸潤能が促進していた。さらに、上皮

細胞マーカーおよび間葉系細胞マーカーのmRNA発現を比較した結果、A549-maspinのN-カドヘリンの発現は、A549-controlと比較して有意に低下していた。一方、RERF-LC-KJ-maspinではこれらのマーカー発現に有意差は見られなかった。

考 察

本研究では肺腺癌細胞株を用いてmaspinの発現解析を行ったが、腺癌細胞株の中でもmaspin発現プロファイルが異なっていることが明らかになった。PC-9ではmaspin発現がBEAS-2Bと同程度の発現量を示し、pancellularの細胞内局在を示したことからPC-9ではmaspin細胞内局在制御メカニズムが正常に機能していることが示唆された。安定発現株における細胞浸潤能について解析したところ、A549-maspinでは細胞浸潤能の抑制が認められたのに対して、RERF-LC-KJ-maspinでは細胞浸潤能の促進が確認された。このことから、癌に対するmaspinの機能は細胞内局在に依存しており、細胞内局在制御メカニズムが正常に機能しているA549-maspinでは癌細胞に対して抑制的に働く一方で、細胞内局在制御メカニズムが破綻しているRERF-LC-KJ-maspinでは、細胞質に発現するmaspinが、癌細胞に対して促進的に働いていることが示唆された。さらに、A549-maspinではcontrol株と比較してN-カドヘリンが有意に低下していたことから、A549-maspinでは正常な細胞内局在制御メカニズムによって核へと移行したmaspinによって、上皮間葉転換（EMT）などの間葉系形質獲得が阻害されていることが示唆された。RERF-LC-KJ-maspinではこれらのマーカーに有意差は認めず、EMT関連因子以外の異なる分子メカニズムによって細胞浸潤能が促進していることが考えられる。

結 論

肺腺癌細胞株におけるmaspinの機能は細胞内局在に依存しており、細胞質および核に発現するmaspinは、細胞浸潤能を抑制するのに対して、細胞質のみに発現するmaspinは細胞浸潤能を促進することが明らかになった。これらの発見によって、maspinの細胞内局在制御メカニズムの解明および細胞質に発現するmaspinの核移行の促進は、肺腺癌患者の新たな治療法開発における標的として有用であることが示唆された。