

氏名	おの でら やす ひと 小野寺 康 仁
学位(専攻分野)	博士 (生命科学)
学位記番号	生博第71号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	生命科学研究所 高次生命科学専攻
学位論文題目	乳癌における AMAP1 蛋白質の発現亢進及びそれを標的とした浸潤活性阻害
論文調査委員	(主査) 教授 佐邊 壽孝 教授 下遠野邦忠 教授 根岸 学

### 論文内容の要旨

癌細胞の浸潤及びそれに伴う転移能獲得は、悪性度の進行と密接に関連する。発癌過程における多段階モデルと同様に、乳癌の浸潤及び転移の過程においても多段階的な遺伝子変化が存在すると考えられてきた。近年確立された DNA マイクロアレイ解析による網羅的な遺伝子発現解析の結果は、予後を規定する遺伝子発現プロファイルの存在を示唆したものの、乳癌の前段階とされている異型乳管過形成と非浸潤性乳管癌、浸潤性乳管癌の3者間に遺伝子発現の大きな差異は無いことが明らかとなった。従って、乳癌細胞の浸潤性を制御する分子機構については未だ解明されていない部分が多い。

ヒト乳癌細胞においては、幾つかの例外を除き、*in vitro* 実験系における癌細胞の浸潤活性（浸潤仮足の形成、細胞外基質の局所的分解、走化性等）と、*in vivo* における表現型との直接的な相関が示されている。申請者は、低分子量 G 蛋白質 Arf6 が、乳癌細胞の浸潤活性において非常に重要な役割を担うことを見出し既に報告した。本研究においては、Arf6 活性と深く関与する ArfGAP である AMAP1/PAG2/ASAP1 について、乳癌の浸潤及び転移における役割について解析を行った。AMAP1 蛋白質の発現量は、高浸潤性乳癌細胞において非常に高い一方、浸潤活性の低い乳癌細胞や正常乳腺上皮細胞においてはその発現量は著しく低かった。各細胞における mRNA 発現量はほぼ一定であったことから、AMAP1 蛋白質の発現亢進は何らかの転写後調節によるものと推測された。一方、ヒト乳癌原発巣の組織染色においても、浸潤癌において AMAP1 蛋白質の顕著な亢進が見られることから、AMAP1 の高発現が乳癌の悪性化に関与することが強く示唆された。

浸潤性乳癌細胞においては、paxillin 及び cortactin が浸潤仮足に集積し、浸潤活性に深く関与することが報告されている。申請者は、同様の浸潤性乳癌細胞において、AMAP1 が浸潤仮足に局在し paxillin 及び cortactin と結合した三者複合体を形成すること、siRNA による AMAP1 蛋白質の発現抑制が *in vitro* における浸潤活性を抑制することを見出した。さらに、この蛋白質複合体の形成は浸潤性乳癌細胞のみに見られること、AMAP1 変異体の発現による複合体形成の阻害により *in vitro* における浸潤活性及びマウス個体内における転移活性が強く抑制されることを明らかにした。これらの結果は、AMAP1 が乳癌細胞の浸潤活性に関与する分子装置の一部であることを示し、同時に、乳癌の浸潤・転移の抑制を目的とした薬剤開発に関して新たな知見を与えるものである。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、がんの中でも遺伝子変異や発現プロフィールといったバイオインフォマティクスが最も進んでいる乳癌に注目し、悪性がん細胞の示す浸潤形質がどのようにして発揮されるのか、その獲得に至る細胞過程は何なのかに着目した解析を行った。その結果、従来当該研究室で解析されていた AMAP1 と呼ばれる蛋白質に、コータクチンという癌浸潤に重要な役割をすることが示唆されていた蛋白質が結合することを見出し、これを契機として、AMAP1 が乳癌の浸潤に重要であること、その際、AMAP1 はコータクチンとさらにパキシリンと呼ばれる蛋白質との三者複合体を形成していること、この複合体は乳癌の浸潤活性や動物個体での転移活性に必要であることを明らかにした。

がんに限らず細胞の浸潤には様々な蛋白質が関与する。しかし、細胞の浸潤的形質は正常な静的状態では強く制限されていることから、浸潤活性発揮時に限って用いられる蛋白質があると考えられる。この考えに基づき、さらに解析をすすめた結果、申請者は、AMAP1 蛋白質の発現は正常乳腺上皮細胞や、乳癌であっても浸潤性の低いものでは殆ど発現せず、高浸潤性乳癌のみが AMAP1 蛋白質を高いレベルに発現していることも明らかにした。興味深いことに、このような発現上昇は *AMAP1* 遺伝子の転写制御とは直接に関係しないものであった。ヒト乳癌病理における AMAP1 の発現についても解析を行い、それが浸潤性や悪性度と良い相関を示すことも明らかにした。さらに、AMAP1/コータクチン/パキシリン三者複合体形成は高い浸潤活性を示す乳癌でのみ検出されることを明らかにした。

本研究は全体として、乳癌の浸潤性発揮に特有であり非浸潤的乳腺上皮や乳癌では作動していない、AMAP1 を中心とする浸潤特異的分子装置が存在することを発見したものである。また、この分子装置が乳癌治療における創薬の優れた分子標的であることを見事に例示した。以上から、本論文は博士（生命科学）の学位論文としてふさわしいと認められた。また、平成18年1月24日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。