

京都大学	博士（医学）	氏名	毛受 暁史
論文題目	Engagement of overexpressed Her2 with GEP100 induces autonomous invasive activities and provides a biomarker for metastases of lung adenocarcinoma (GEP100を伴ったHer2過剰発現は、肺腺癌の自律的浸潤能を促進し、転移のバイオマーカーとなる)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>癌関連死の主な原因は、癌細胞の全身播種および他臓器への遠隔転移である。中でも肺癌は、世界で最も致命的な疾患の一つであり、浸潤・遠隔転移しやすいことが知られている。従って、特に肺癌における浸潤転移能の制御は、その治療上、最も重要かつ困難な問題である。</p> <p>Her2/ErbB2/NeuはErbB family receptorの一種であるが、そのリガンドは見つかっていない。Her2は、他のErbB family receptorと二量体化するか、もしくは、自身の過剰発現により、リガンド非依存的に多量体化して活性化される。Her2過剰発現は、乳癌や肺癌を含む様々な癌種において、癌の遠隔転移、再発と関係している予後不良因子として報告されているが、その浸潤転移メカニズムは十分には解明されていない。これまでに、活性化EGFRが、GEP100を介してArf6-AMAP1経路を活性化し、浸潤転移を促進することが、主に乳癌において示されてきた。</p> <p>本論文では、肺癌の主要な組織型である腺癌において、Her2過剰発現がGEP100を介してArf6を活性化し、浸潤転移に重要な役割を果たしていることが解明された。</p> <p>最初に、Her2とGEP100を発現させた再構成系において、免疫沈降実験によりこれら分子の結合が確認された。この結合は、GEP100のPHドメインとHer2細胞内領域の1139番目および1196番目のリン酸化チロシンを介して行われていた。実際にHer2とGEP100の過剰発現によりArf6が活性化することを確認した。Her2のTyr1139およびTyr1196は、過剰発現により自律的に自己リン酸化されることが知られている。従って、Her2-GEP100経路を介したArf6活性化は、リガンド非依存的と考えられた。</p> <p>次に、肺腺癌細胞株でこの経路の浸潤能への影響を解析するため、Her2高発現およびEGFR低発現であるH522細胞を使用した。細胞溶解液の免疫沈降実験により、GEP100とHer2の結合はみられたが、EGFR、Her3とは結合がみられなかった。さらに、同細胞株においてHer2阻害剤、GEP100のknock down、Her2とGEP100の結合阻害を行い、その結果、この細胞株のin vitroの浸潤能は40-60%減少した。またGEP100経路下流の分子であるAMAP1のknock downにても浸潤能が低下した。H522細胞では、Her2シグナルがGEP100を介して、浸潤能亢進に重要な役割を果たしていた。</p> <p>最後に132例の原発性肺腺癌切除検体を用いて、Her2とGEP100の免疫染色を行い、その臨床的重要性を解析した。染色強度によりスコア化を行い（GEP100：0~2、Her2：0~3）、陽性率は、GEP100が51.5%、Her2が40.2%であった。また、全検体におけるGEP100高発現率は、リンパ節転移の有無との間に相関はみられなかったが、HER2過剰発現群ではリンパ節転移陽性例におけるGEP100の高発現率は100%であり、リンパ節転移陰性例と比べ、統計学的に有意に高率であった（p=0.0197）。</p> <p>以上の結果より、過剰発現したHer2にGEP100が結合することで、癌細胞の自律的すなわちリガンド非依存的な浸潤転移能が亢進することが明らかとなった。また、原発巣におけるGEP100高発現とHer2過剰発現は、肺腺癌のリンパ節転移を予測するバイオマーカーとなりうることが示唆された。GEP100のPHドメインは、Her2のみならずEGFRとも結合して癌細胞の浸潤転移能を亢進させるため、癌の浸潤転移制御を目的とした新たな治療標的になると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

肺癌は、世界で最も致命的な疾患の一つであり、その浸潤転移能の制御は、治療上最も重要かつ困難な問題である。Her2/ErbB2/NeuはErbB family receptorの一種であり、その浸潤転移機構は十分に解明されていない。これまでに、活性化EGFRが、GEP100を介してArf6-AMAP1経路を活性化し、主に乳癌の浸潤転移を促進することが報告されている。

本研究では、Her2過剰発現によるGEP100-Arf6経路の活性化が、肺癌浸潤能に及ぼす影響を、再構成系およびHer2過剰発現肺腺癌細胞株であるH522を用いて検討した。その結果、Her2細胞内領域のリガンド非依存的リン酸化部位である1139および1196番目のチロシンリン酸化とGEP100のPHドメインがその結合に関り、Arf6が活性化することを確認した。また同経路の阻害によって、H522のリガンド非依存的なin vitro浸潤能が抑制された。

さらに、原発性肺腺癌切除検体におけるHer2とGEP100の免疫組織染色強度を検討した結果、Her2過剰発現群でのリンパ節転移陽性例におけるGEP100の高発現率は100%であり、リンパ節転移陰性例と比べ、有意に高率であった。

これらの結果より、過剰発現したHer2がGEP100-Arf6経路を活性化することで、肺腺癌のリガンド非依存的な浸潤転移能が亢進することが明らかとなった。また、GEP100高発現とHer2過剰発現は、肺腺癌のリンパ節転移を予測するバイオマーカーとなりうることを示唆された。

以上の研究はHer2過剰発現を伴った肺腺癌の新たな浸潤機構の解明に貢献し、浸潤転移能を標的とした癌の新規標的治療の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成24年1月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降