

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)		
(論文内容の要旨)			
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。 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。 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。 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。 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。 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）。 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を示唆された。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。			

（論文審査の結果の要旨） 肺癌は、世界で最も致死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			