



Title	Calretinin mediates apoptosis in small cell lung cancer cells expressing tetraspanin CD9
Author(s)	Kuhara, Hanako
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/26321
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨 Synopsis of Thesis

〔論文題名 : Thesis Title〕

Calretinin mediates apoptosis in small cell lung cancer cells expressing tetraspanin CD9
(CD9陽性小細胞肺癌細胞においてcalretininはアポトーシスを媒体する)

専攻名 : 内科系臨床医学専攻
Division

学位申請者 : 久原 華子
Name

印

〔目的(Purpose)〕 小細胞肺癌(SCLC)は非小細胞肺癌(NSCLC)に比べ悪性度が高く、治療に難渋する。進展型SCLCの標準治療はシスプラチニン(CDDP)やエトポシド等の抗癌剤治療であるが、SCLCは抗癌剤感受性が高いにも関わらず再燃率が高い。SCLCの悪性度が高い一因として、アポトーシスに対する耐性があげられる。抗癌剤治療の進歩のためには、SCLC細胞のアポトーシス耐性のメカニズム解明が必要であるが、未だ明らかでない。テトラスパニンは細胞膜4回貫通蛋白ファミリーで、インテグリンや他の膜蛋白と共に細胞膜にて複合体を形成し、細胞の接着や遊走、分化などの機能を修飾する。なかでもCD9とCD82は固形癌の転移抑制因子と言われ、これらの発現低下が乳癌や肺癌、大腸癌、NSCLCの進行、予後不良に繋がるとの報告がある。我々はこれまで、大部分のSCLCでCD9の発現が低下していること、SCLC細胞においてCD9を強発現させると、運動能が抑制されアポトーシスが促進されること、抗癌剤曝露によりSCLC細胞のCD9が誘導されることを示してきた。本研究では、CD9により促進される、SCLC細胞のアポトーシスのメカニズムにつき検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 CD9を発現していないヒトSCLC親株OS3-R5、CD9を強制発現させたトランスフェクタントOS3-R5-CD9、mockトランスフェクタントを2次元電気泳動にかけ、OS3-R5-CD9のみに存在するスポットを質量分析法で解析し、CD9により誘導される蛋白としてカルシウム結合蛋白calretininを見出した。複数のCD9トランスフェクタントにおいて、CD9蛋白の発現レベルはcalretininの発現レベルと相関し、別のテトラスパニンであるNAG-2のトランスフェクタントではcalretininの発現は認めなかった。RT-PCRでCD9とcalretininの共発現を調べたところ、SCLC細胞株8種のうち2株はCD9、calretininとも陽性、残り6株はCD9、calretininとも陰性を示した。一方、NSCLCでは3株中3株ともCD9陽性であったが、calretininは陰性であった。さらに、CD9およびcalretininが陽性のヒトSCLC細胞株OS1において、CD9をノックダウンするとcalretininの発現量は減少した。これらの結果から、ヒトSCLC細胞株ではCD9がcalretininの発現を誘導することが示された。次にヒトSCLC組織においてCD9及びcalretininの免疫染色を行ったところ、30症例中CD9陽性は11例、calretinin陽性は11例、双方陽性は7例であり、CD9とcalretininの発現には相関関係を認めた。 $(p=0.047)$ しかし両者の染色パターンは異なり、またOS3-R5-CD9を用いた免疫沈降においてcalretininはCD9とは共沈せず、calretininとCD9は直接複合体を形成するわけではないことが分かった。最後に、CD9によるSCLCのアポトーシス誘導にcalretininが関与しているか、CD9/calretinin陽性のOS-1細胞においてcalretininをノックダウンし、PARP、phospho-Aktの発現量およびcell survivalを比較した。抗癌剤CDDPへの暴露に関わらず、calretininをノックダウンするとアポトーシスが抑制されることが分かった。またOS3-R5と、OS3-R5-CD9にCDDPを加えて同様の比較検討を行ったところ、calretinin陽性のOS3-R5-CD9では親株OS3-R5と比較してアポトーシスが増強した。OS1同様、OS3-R5-CD9においてもcalretininをノックダウンするとアポトーシスが抑制された。以上の結果から、SCLCではCD9発現がcalretinin発現を誘導し、calretininを介してアポトーシスを起こすことが示唆された。

〔総括(Conclusion)〕 CD9陽性SCLC細胞は、カルシウム結合蛋白であるcalretininを介してアポトーシスを起こす。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 久原 華子	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 熊ノ脚淳
	副 査 大阪大学教授 奥村 明之進
	副 査 大阪大学教授 竹田 澄

論文審査の結果の要旨

小細胞肺癌 (SCLC) は抗癌剤感受性が高いにも関わらず再燃率が高く治療に難渋する。このようなSCLCの高い悪性度の一因として、アポトーシスに対する耐性があげられる。抗癌剤治療の進歩のためには、SCLC細胞のアポトーシス耐性のメカニズム解明が必要であるが、未だ明らかでない。テトラスパニンであるCD9は様々な固形癌の予後との関連の報告があるがSCLCに関しては報告がなく、今回著者らはCD9により促進される、SCLC細胞のアポトーシスのメカニズムにつき検討した。プロテオミクスを用いた解析によりCD9関連蛋白としてcalretininを見出し、非小細胞肺癌における固形癌転移抑制因子として知られるCD9がSCLCにおいてもcalretininを介してアポトーシスを誘導することを示した。このことは今後のSCLC抗癌剤治療の進歩に役立つ可能性を示唆し、学位論文に値する。