

Title	Zinc and its transporter ZIP10 are involved in invasive behavior of breast cancer cells.
Author(s)	加々良, 尚文
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47471">https://hdl.handle.net/11094/47471</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	か が ら なお ふみ 加々良 尚 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20970 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Zinc and its transporter ZIP10 are involved in invasive behavior of breast cancer cells. (亜鉛および亜鉛輸送蛋白 ZIP10 は乳癌細胞の転移浸潤能に関与する。)
論文審査委員	(主査) 教 授 平野 俊夫  (副査) 教 授 宮坂 昌之 教 授 福澤 正洋

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

亜鉛は生体の微量必須元素の一つであり、癌をはじめとして様々な疾患や障害との関連が指摘されている。細胞内亜鉛濃度は細胞外に比べて低濃度に保たれており、その恒常性維持には亜鉛トランスポーターや様々な緩衝機構が関わっている。亜鉛トランスポーターは亜鉛輸入蛋白の ZIP ファミリーや輸出蛋白の ZnT ファミリーから構成され、それらの中には癌との関連が報告されているものも存在する。乳癌については、ZIP ファミリーの一つの ZIP6 がリンパ節転移に関与すると報告されているが、異論を唱える報告もありその真偽詳細は明らかでない。今回我々は、これらの亜鉛トランスポーターの乳癌転移浸潤への関与を検討するため、種々の乳癌細胞株および乳癌手術検体の発現解析から乳癌転移浸潤と関連する亜鉛トランスポーターを探索し、乳癌細胞株においてその機能解析を行なった。

#### 〔方法ならびに成績〕

代表的な乳癌細胞株のうち、非転移性株 4 種 (MCF-7、T-47-D、ZR-75-1、ZR-75-30) と転移性株 2 種 (MDA-MB-231、MDA-MB-435S) において亜鉛トランスポーターの ZIP ファミリーの mRNA 発現を比較検討したところ、従来乳癌のリンパ節転移との関連を指摘されている ZIP6 は相関が見られず、ZIP6 と最も近縁のファミリーメンバーである ZIP10 において転移性株で高発現を認めた。次に、当院で得られた乳癌手術標本 177 検体について、ZIP6 と ZIP10 の mRNA 発現を real-time-PCR 法で測定したところ、ZIP10-mRNA 発現はリンパ節転移陽性例 (n=85) において陰性例 (n=92) より有意に高かった (p=0.00080)。一方、ZIP6-mRNA の発現はリンパ節転移と有意な相関を認めなかっただけでなく (p=0.94)、他の臨床病理学的因子との解析においても、組織学的低悪性度、エストロゲンレセプター陽性、HER2 陰性などの予後良好因子と正の相関を示した (いずれも p<0.0001)。これらのことから、癌の転移浸潤能には ZIP6 ではなく ZIP10 が関わっていることが示唆された。

次に、これらのトランスポーターが乳癌細胞の運動能に及ぼす影響を検討するため、転移性乳癌細胞株 MDA-MB-231、MDA-MB-435S の 2 種について、それぞれ control、ZIP6、ZIP10、ZIP6/10 に対する siRNA を導入したノックダウン細胞を作製した。半定量的 PCR および real-time-PCR により、ZIP6、ZIP10 の siRNA がそれ

ぞれ特異的に標的遺伝子をノックダウンしていることを確認した。ZIP10 および ZIP6/10 ノックダウン細胞では、<sup>65</sup>Zn-uptake 測定により細胞内への亜鉛の取り込みの減少が確認され、in vitro transwell migration assay と time-lapse 経時観察により細胞運動能が低下していることが確認された。一方、ZIP6 のみのノックダウン細胞は亜鉛取り込み能、細胞運動能ともに control と変化はなかった。

またこれらの乳癌細胞株において、亜鉛のキレート剤処理により ZIP10 ノックダウン同様に細胞運動の抑制が確認されたが、他の金属イオン（銅、鉄、マンガン）に対するキレート剤では抑制されず、乳癌細胞の運動能に亜鉛が必要であることが示された。

以上より、乳癌細胞の運動能獲得には亜鉛が必要であり、その供給に亜鉛トランスポーターZIP10 が関与していることが明らかになった。

#### 〔総括〕

亜鉛トランスポーターZIP10 を介して取り込まれた亜鉛が乳癌細胞の転移浸潤能に関わっていることが、乳癌細胞株のノックダウン実験および臨床検体の発現解析により明らかとなった。また、従来から報告のあった ZIP6 については乳癌転移浸潤能への関与を認めなかった。今回の研究をもとに、ZIP10 発現の乳癌転移能診断への応用、新たな分子標的治療の対象として発展が期待できる。

### 論文審査の結果の要旨

亜鉛は生体の必須微量元素の一つであり、その不足は様々な障害を引き起こす。亜鉛と癌との関連についても報告されているが、その詳細は明らかでない。申請者は今回の研究で、亜鉛輸送蛋白の一つである ZIP10 が乳癌の転移能に深く関わっていることを明らかにした。彼は、ZIP10-mRNA 発現は、リンパ節転移を伴う臨床乳癌組織や、高い転移浸潤能を有する乳癌細胞株（MDA-MB-231、MDA-MB-435S）において有意に高いことを発見した。さらに、siRNA を用いた MDA-MB-231 および MDA-MB-435S の ZIP10 ノックダウン細胞では、細胞内への亜鉛の取り込みが減少し、細胞運動の低下が起きることを確認し、さらに亜鉛のキレート剤処理でも同様に細胞運動が抑制されることを明らかにした。以上の実験的事実から、亜鉛輸送蛋白 ZIP10 は亜鉛を介して乳癌細胞の転移浸潤に関わっていると結論している。本研究は癌領域における亜鉛の関与を示した興味深い知見であり、学位の授与に値すると考えられる。