

Title	Absence of CD9 Enhances Adhesion-Dependent Morphologic Differentiation, Survival, and Matrix Metalloproteinase-2 Production in Small Cell Lung Cancer Cells
Author(s)	齋藤, 宜之
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49029
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

氏 名	さい とう よし ゆき 齋 藤 宜 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 6 6 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 2 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Absence of CD9 Enhances Adhesion-Dependent Morphologic Differentiation, Survival, and Matrix Metalloproteinase-2 Production in Small Cell Lung Cancer Cells (小細胞肺癌における CD9 欠失はインテグリンを介した細胞形態変化、 細胞生存、マトリックスメタロプロテアーゼ-2 産生を増強する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 川瀬 一郎 (副査) 教 授 金倉 譲 教 授 奥村明之進

論 文 内 容 の 要 旨

〔 背景 〕

小細胞肺癌 (SCLC) は早期の段階でリンパ節や遠隔転移を起こし予後不良である。初期の化学療法や放射線の感受性は高いが、次第に治療抵抗性となる。In vitro では形態変化を来した癌細胞は抗アポトーシスシグナルを獲得し治療抵抗性であることが知られている。また最近では臨床的に SCLC は原発巣、転移巣ともにフィブロネクチンなどの細胞外マトリックス (ECM) に囲まれており、その ECM と $\beta 1$ インテグリンを介したシグナルによって癌細胞がアポトーシスを回避していることがわかった。In vitro において抗癌剤や放射線抵抗性及び無血清下での ECM 接着後の形態変化を来す SCLC 細胞株では PI3K/AKT が活性化しており、抗アポトーシス作用の重要なシグナルの一つであることがいわれている。一方、テトラスパンイン蛋白質である CD9 や CD82 は固型癌において転移抑制に働くとされており、非小細胞肺癌や乳癌などでは CD9 や CD82 の発現低下と予後との逆相関が報告されている。CD9 は $\beta 1$ インテグリンと結合しており、その結合体を介して細胞運動やシグナルを制御することにより腫瘍細胞の増殖を抑制している。しかしながら、CD9 の発現低下による抗アポトーシスシグナルの獲得、細胞生存増強の詳細な機序はわかっていない。また、乳癌細胞株においてテトラスパンイン-インテグリン複合体が PI3K に依存したマトリックスメタロプロテアーゼ-2 (MMP-2) 産生を調節しているとの報告もみられている。以前当教室では、大部分の SCLC 細胞株において CD9 発現欠失を認め、CD9 発現回復により $\beta 1$ インテグリンを介する細胞運動抑制がみられることを報告した (Funakoshi T, et. al, Oncogene, 2003)。そこで本研究では SCLC における CD9 欠失がインテグリンを介するシグナル、細胞形態変化、細胞生存、MMP-2 産生に及ぼす影響について検討を行った。

〔 方法 〕

人由来小細胞肺癌細胞株である OS3R5、CADO LC6、OS2RA、OC10、NCI-H446 を使用した。CD9 の stable transfectant を OS3R5 で樹立し、OS3R5、LC6、OC10 において GFP、GFP-CD9 の transient transfection を行った。また、H-446 (CD9 陽性) を用いて CD9 の knock down を siRNA 導入にて行った。ポリ-L-リシンまたはフィブロネクチンコートをした培地上で細胞を無血清培養し形態変化、生存、アポトーシスについて検討した。細胞形態変化は 3 または 24 時間後にデジタルカメラで撮影し評価した。細胞生存については 72 時間培養後に MTT assay ま

たは cell count 法にて評価した。アポトーシスの評価は培養 48 時間後に TUNEL 法にて行った。無血清下でのフィブロネクチン接着後の FAK、JNK、AKT のリン酸化の変化は Western blot 法にて行い、MMP-2 の産生量は RT-PCR 法及び Gelatin zymography にて評価した。また OS3R5 に PI3K、MEK1、p38、JNK インヒビターを作用させ、形態変化、アポトーシス、MMP-2 産生の変化について検討を行った。

〔 結果 〕

CD9 発現は無血清フィブロネクチンコート上での細胞突起形成を抑制し、アポトーシスを促進させた。CD9 強制発現細胞株ではフィブロネクチン接着後の AKT のリン酸化が親株より低下しており、逆に CD9 を knock down させると AKT のリン酸化は増強した。しかし、CD9 は CXCR4 の ligand である SDF-1 α 刺激による AKT リン酸化には影響を及ぼさなかった。CD9 発現のない細胞株に PI3K インヒビターである LY294002 を作用させると細胞突起形成抑制、アポトーシス促進を認めた。また、CD9 強発現細胞株および LY294002 で処理した親株の MMP-2 産生は低下した。

〔 総括 〕

本研究の結果より小細胞肺癌において CD9 は PI3-K/AKT を介して細胞接着による形態変化、生存及び MMP-2 産生に関与していることが明らかとなった。また、CD9 が将来的に治療のターゲットになる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

小細胞肺癌において腫瘍内の支持組織はフィブロネクチンなどの ECM タンパクに富んでおり、癌細胞と ECM タンパクとの接着が抗アポトーシスを引き起こしている。また、テトラスパニンファミリーの一つである CD9 は癌においてはその発現が浸潤、転移に対し抑制的に作用しているといわれている。申請者の教室では、大部分の小細胞肺癌細胞株及び臨床検体にて CD9 発現欠失があり、in vitro において CD9 の発現回復が細胞運動低下をもたらすことを報告した。今回の研究では、CD9 が細胞運動抑制以外に、フィブロネクチン接着後の細胞形態変化及び細胞生存低下をもたらし、さらには転移、浸潤に重要であるマトリックスメタロプロテアーゼ-2 (MMP-2) 産生を低下させることを示した。またそのメカニズムとして細胞生存に重要な経路の一つである PI3K/AKT シグナルを介していることも報告している。CD9 欠失が小細胞肺癌悪性化の原因の一つである事が示唆され、この結果は小細胞肺癌においては初めての報告である。新しい知見に富んでおり学位論文に値すると考えられる。