

Title	Annexin A4 induces platinum resistance in a chloride-and calcium-dependent manner
Author(s)	森本, 晶子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51968
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	森本 晶子
論文題名 Title	Annexin A4 induces platinum resistance in a chloride- and calcium-dependent manner (アネキシンA4は塩化物・カルシウム依存的にプラチナ耐性を誘導する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的〕</p> <p>プラチナ耐性は様々な癌腫において、治療上の問題となっている。我々は、AnnexinA4 (ANXA4) の発現増強がプラチナ製剤に対する耐性に関与していると報告してきた。今回、我々は、ANXA4をノックダウンすることでプラチナ製剤への感受性が増強し治療ターゲットとなりうるかの検討およびプラチナ耐性に関与するアネキシンの機能領域解析を行った。</p> <p>〔方法〕</p> <p>ANXA4を高発現する卵巣明細腺癌細胞株RMG-Iを用い、ANXA4のノックダウン株を作成し、プラチナ製剤に対する感受性試験を <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> にて検討した。機能領域の解析として、ANXA4が有するカルシウムイオン (Ca²⁺) 結合部位である4個のannexin repeatを、C末端側より1個ずつ欠失させたdeletion mutantを作成し、ANXA4の発現が低い胃癌細胞株NUGC3に導入し安定発現株を樹立した。それらを用い、シスプラチン・カルボプラチンでのプラチナ感受性の検討 (IC50) ・細胞内プラチナ (Pt) 蓄積量の検討を行った。また、各deletion mutantをマウスに移植し、<i>in vivo</i> でのプラチナ感受性を比較した。さらに、耐性の機序としてANXA4が関与する塩化物イオン (Cl) チャンネルに着目し、シスプラチン投与後の細胞内のCl濃度変化を検討した。</p> <p>〔成績〕</p> <p>ANXA4ノックダウン株では、<i>in vitro</i> においてシスプラチン・カルボプラチン共に薬剤感受性が有意に改善し、<i>in vivo</i> においてもシスプラチン投与による腫瘍増殖の有意な抑制が認められた。</p> <p>ANXA4のdeletion mutant安定発現株では、シスプラチン・カルボプラチン共にIC50値は有意に上昇し、細胞内のPt蓄積量は有意に減少していた。細胞内のPt蓄積量は、薬剤暴露直後および暴露後3時間のいずれでも減少を認めた。これに対して、N末端側のannexin repeat を1個だけ有する株のCa²⁺結合部位が機能しなくなるpoint mutationを導入した株では薬剤耐性が誘導されず、細胞内Pt蓄積量の減少も認めなかった。<i>In vivo</i> においても <i>in vitro</i> と同様の結果が示された。プラチナ製剤に耐性を示した株では、シスプラチン暴露後に有意な細胞内Cl濃度の上昇が認められた。</p> <p>〔総括〕</p> <p>ANXA4のプラチナ耐性には薬剤排出促進とともに薬剤取込抑制も関与し、少なくともN末端側のCa²⁺結合部位が関与し、薬剤投与後のCl濃度の上昇がプラチナ耐性に関与することが示された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 森本 晶子

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 木村 正
	副 査	大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授 金井 好克

論文審査の結果の要旨

先行研究におけるAnnexinA4 (ANXA4) のプラチナ (Pt) 耐性に関与する事実に基づき、当研究においてANXA4の機能領域解析を目的とした。ANXA4が有するカルシウムイオン (Ca²⁺) 結合部位である4個のannexin repeatを1個ずつ欠失させた deletion mutantを作成し、ANXA4弱陽性の胃癌細胞株NUGC3に導入し安定発現株を樹立した後、シスプラチン・カルボプラチンでのプラチナ感受性の検討 (IC₅₀)・細胞内Pt蓄積量の検討を行った。ANXA4 deletion mutant安定発現株では、Pt両製剤共にIC₅₀値は有意に上昇し、細胞内のPt蓄積量は有意に減少していた。N末端側のannexin repeat を1個だけ有するcDNAにCa²⁺結合部位が機能しなくなるpoint mutationを導入した分子では薬剤耐性が誘導されず、細胞内Pt蓄積量の減少も認めなかった。Pt製剤に耐性を示した株では、シスプラチン暴露後に有意な細胞内Cl濃度の上昇が認められた。ANXA4のPt耐性には少なくともN末端側のCa²⁺結合部位が関与し、薬剤投与後のCl濃度の上昇がPt耐性に関与することが示された。

ANXA4の機能領域を明らかにした初めての報告であり、ANXA4が属する他のアネキシンファミリーでの薬剤耐性にも関わる可能性を示す重要な知見である。従って、本研究は学位に値するものである。