

Title	ARL4C is associated with initiation and progression of lung adenocarcinoma and represents a therapeutic target
Author(s)	木村, 賢二
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/76439">http://hdl.handle.net/11094/76439</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	木村 賢二
論文題名 Title	ARL4C is associated with initiation and progression of lung adenocarcinoma and represents a therapeutic target  (ARL4Cは肺腺癌の発癌と進行に関わり、肺癌の治療標的分子になりうる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>肺腺癌が前癌病変の異型腺腫様過形成(AAH)から上皮内癌(AIS)、微小浸潤性癌(MIA)、浸潤性腺癌(IA)へと段階的に進行する際の機序は明らかではない。本研究は、低分子量Gタンパク質であるARL4Cの肺腺癌進行過程における役割を明らかにし、肺腺癌の治療標的分子になりえるかを検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>実験①: 実臨床において肺腺癌でARL4Cが発現する意義を明らかにするため、2011年～2018年の間に、当科で施行した161例の肺切除標本を用いてARL4C抗体で免疫染色を行い、ARL4Cの発現と臨床病理学的背景および予後の関連を調べた。全腫瘍細胞の中でARL4C陽性細胞が占める面積が20%より大きい症例を高発現群、それ以外を低発現群と定義した。ARL4C高発現率はAAHで高かった(66.7%)。さらに各組織型におけるARL4C高発現率は、AIS(23.3%), MIA(36.3%), IA(50.6%)と進行するに従って段階的に増加し、ARL4C高発現群は肺癌の悪性度を示す指標であるPET-CTでのFDG集積が高い傾向にあった(<math>p=0.01</math>)。ARL4C高発現群は低発現群と比べて無再発生存期間が短かった(<math>p=0.0128</math>)。</p> <p>実験②: ARL4CがAAHで高発現していたことに注目し、前癌病変におけるARL4Cの機能を明らかにするため不死化した正常ヒト気道上皮細胞(SAEC)のARL4C-wild type(-WT)過剰発現株を樹立し、その表現型を検証した。Matrigel®を用いた3D増殖assayでARL4C-WT過剰発現株はcontrol株と比較し増殖能の亢進を認めた。一方、不活性型であるARL4C<sup>G2A</sup>発現株はcontrol株と比較しても同様の現象は認めなかった。これらと同様の結果はsingle colony formation assayでも得られた。そのメカニズムとしてARL4C-WT過剰発現株はcontrol株やARL4C<sup>G2A</sup>発現株と比較し、YAP/TAZの核内移行やRAC活性が亢進していた。</p> <p>実験③: ARL4Cを標的とした治療薬として核酸医薬であるanti-sense oligonucleotide(ASO)に注目した。ARL4Cを内在性に高発現するヒト肺腺癌細胞株A549(KRAS mutation:G12S)、H1975(EGFR mutation: L858R and T790M)を用いた。ARL4C ASOを細胞へ導入しARL4Cの発現を抑制した後、Matrigel®を用いた3次元培養での増殖assayや遊走assayを行い<i>in vitro</i>での抗腫瘍効果を評価した。3D増殖assayでは、control群と比較するとASO群において、A549, H1975ともにYAP/TAZの核内移行やRAC活性が抑制され、腫瘍の増殖を有意に抑制された。この現象はそれぞれのASO耐性のARL4C過剰発現株においてrescueされた。遊走assayでもA549, H1975ともにcontrol群と比較するとASO群で有意に遊走能の低下を認め、この現象に関してもそれぞれのASO耐性の過剰発現株においてrescueされた。</p> <p>実験④: ARL4C ASOの<i>in vivo</i>での抗腫瘍効果を検証した。A549のluciferase安定発現株(A549-luc)を免疫不全マウスの左肺へ打ち込み(day0)、day7にIVIS Imaging System(IVIS)で腫瘍の定着を確認した。Control ASO投与群(control群:n=7)とARL4C ASO投与群(ASO群:n=9)の2群に分け、ASO(100 µg/body)を経気道的に計3回(day7, 11, 15)投与し、治療効果をIVISで評価した。治療前day7のIVISでcontrol群:<math>(3.1 \pm 1.9) \times 10^6</math> ASO群:<math>(6.8 \pm 5.1) \times 10^6</math> (p/sec/cm<sup>2</sup>/sr)と両群間に有意差は認めなかった(<math>p=0.09</math>)。Day21ではcontrol群:<math>(19.4 \pm 11.8) \times 10^6</math> ASO群:<math>(10 \pm 7.2) \times 10^6</math> (p/sec/cm<sup>2</sup>/sr)で、腫瘍量の平均増大率はcontrol群:6.0に対し治療群:1.4で、ASO群において有意に低い結果(<math>p &lt; 0.01</math>)であった。Day21で摘出したASO群の肺内腫瘍細胞における免疫染色ではARL4Cの発現やKi-67陽性率はcontrol群と比較すると抑制されていた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
ARL4Cは肺腺癌の発癌と進行過程に関与し、ARL4C ASOは新たな肺癌治療になりえると考えられた。	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 木村賢二	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 新 石 康
	副 査 大阪大学教授 猪 俣 貞 典
	副 査 大阪大学教授 熊 御 淳
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>肺腺癌が前癌病変の異型腺腫様過形成(AAH)から上皮内癌(AIS)、微小浸潤性癌 (MIA)、浸潤性腺癌 (IA)へと段階的に進行する際の機序は明らかではない。本研究は、低分子量Gタンパク質であるARL4Cの肺腺癌進行過程における役割を明らかにし、肺腺癌の治療標的分子になりえるかを検討した。肺癌切除標本で免疫染色を行い、ARL4Cの発現と臨床病理学的背景との関連を調べた。ARL4C発現率はAAHで高く、AIS, MIA, IAでは段階的に増加し、その発現が予後不良と相関した。一方、ARL4Cを強制発現した正常気道上皮細胞では2次元と3次元培養で増殖能が促進し、細胞死が抑制された。また、ARL4Cのアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)で、肺癌細胞株のARL4C発現を抑制したところ増殖能と遊走能は低下した。さらに同所移植肺癌モデルマウスでは、ARL4CASOの経気道投与群で生着した腫瘍細胞の増殖を抑制した。本研究は、ARL4Cが肺腺癌の発癌と進行過程に関与していること、さらに、ARL4CASOが難治性である肺癌の新規治療薬となりうる可能性を示した研究であり、学位の授与に値すると思う。</p>	