

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 372 号		学位申請者	吉村 卓也
審査委員	主査	杉浦 剛	学位	博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	仙波 伊知郎	副査	後藤 哲哉
	副査	徳田 雅行	副査	野添 悦郎

### PCP4/PEP19 promotes migration, invasion and adhesion in human breast cancer MCF-7 and T47D cells

(ヒト乳癌細胞 MCF-7 及び T47D において PCP4/PEP19 は遊走、浸潤及び接着を促進する)

Purkinje cell protein 4 / peptide 19 (以下 PEP19) は小脳に特異的に発現し、アポトーシスをはじめとする Calmodulin を介した機能に関連することや、ヒト乳癌における発現、Akt シグナル経路を介した抗アポトーシス作用などが報告されている。B cell specific moloney murine leukemia virus integration site (以下 Bmi) -1 はヒト乳癌を含む多くの癌で細胞接着、遊走、浸潤、EMT の重要な誘導因子として有名である。学位申請者らは、遊走、浸潤、接着における PEP19 の役割を検討する為に比較対象として Bmi-1 を設定し、乳癌細胞株 MCF-7、T47D を用いて、siRNA にて Bmi-1、PEP19 を knockdown し (以下 si-Bmi-1、si-PEP19)、RT-PCR、Western Blot、Wound healing assay、Invasion assay、Immunocyto staining、Active RhoA/Cdc42/Rac1 pull-down assay、Cell adhesion assay、sub-G1 analysis を行った。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) PEP19 は細胞質、核の両方に存在し、17 $\beta$ -estradiol 刺激や Bmi-1 の knockdown による局在変化はなかった。
- 2) si-Bmi-1、si-PEP19 により細胞形態が丸みを帯び、vinculin の発現、filopodia 様突起は有意に減少した。
- 3) si-Bmi-1、si-PEP19 により Snail の発現が減少し、細胞膜での E-cadherin の発現は増加した。また、MCF-7 では Bmi-1 が PEP19 を上流で制御している可能性が示唆された。
- 4) si-Bmi-1、si-PEP19 により細胞遊走能、浸潤能が低下した。
- 5) si-Bmi-1 により RhoA の活性上昇、Cdc42/Rac1 の活性低下を認めたが、si-PEP19 では RhoA/Cdc42/Rac1 の活性変化を認めず、Bmi-1 と PEP19 は異なった経路で細胞形態を制御していると考えられた。
- 6) si-PEP19 は細胞接着能を低下させ、接着細胞における sub-G1 期の割合を増加させたが、非接着細胞における sub-G1 期の変化は認めなかった。

PEP19 の乳癌細胞における新たな機能として遊走、浸潤、接着への関与が示された。さらに PEP19 は EMT (上皮間葉移行) の upregulation に関与する新たな因子と考えられ、MCF-7 においては Bmi-1 の下流に位置している可能性があるが、RhoA/Cdc42/Rac1 の活性には関与していないことが示唆された。また、PEP19 は細胞外マトリックスへの接着についても制御しているが、anoikis とは無関係かもしれない。

本研究は PEP19 の新たな機能としてヒト乳癌細胞の遊走、浸潤、接着への関与を報告したものであり、PEP19 が乳癌の増殖、浸潤、転移を抑制するような分子標的薬の標的として利用できる可能性があることを示唆した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。