

機関番号：22701

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570138

研究課題名 (和文) aPKC 依存的な遺伝子発現を介した新規細胞極性制御メカニズムの解析

研究課題名 (英文) Regulation of Cell polarity by aPKC dependent gene expression

研究代表者

秋本 和憲 (AKIMOTO KAZUNORI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：70285104

研究成果の概要 (和文)：

- ① ヒト乳がん、胃がんと前立腺がんにおいて aPKC $\lambda$  が過剰発現していることを明らかとし、胃がんと前立腺がんでは aPKC $\lambda$  過剰発現が再発・再燃と相関することを明らかとした。
- ② 新規 aPKC $\lambda$  依存的な IL6 遺伝子発現経路 (aPKC $\lambda$ -IL6 経路) が再燃・再発性前立腺がんの増殖に関わることを明らかとした。
- ③ この新規 aPKC $\lambda$ -IL6 経路が前立腺がんの再発に関わることをヒト検体の解析で明らかとした。
- ④ aPKC $\lambda$  が乳腺前駆細胞の増殖制御に関わることを明らかとし、これに関わる分子メカニズムを明らかとした。さらにこの破綻がヒト乳がんの約 8% に関わることを明らかとした。

研究成果の概要 (英文)：

aPKC $\lambda$  overexpresses in breast, gastric, and prostate cancers (Human Path. 2008; Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009; Ann Surg Oncol. 2010). The overexpression of aPKC $\lambda$  at least correlates with the recurrence in gastric and prostate cancers (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009; Ann Surg Oncol. 2010). aPKC $\lambda$  promotes growth of prostate cancer cells in an autocrine manner through transcriptional activation of IL-6 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009). The co-expression of aPKC $\lambda$  and IL-6 in prostate cancer tissue correlates with biochemical recurrence (Cancer Sci. 2011). Furthermore, we revealed that aPKC $\lambda$  regulates the cell population of mammary luminal progenitor cells in early breast cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：機能生物化学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：細胞情報伝達機構, 細胞極性

## 1. 研究開始当初の背景

発がん細胞極性制御の破綻は密接に関連する。しかしながら、そのメカニズムは不明な点が多く、詳しい解析が待たれている。aPKCは多細胞生物種間で保存され、細胞極性制御を介して様々な生物種の組織形成と維持に重要な役割を果たしている。我々は、哺乳類 aPKC の上皮組織形成や病態における役割を調べる目的で、aPKC 分子の一つである aPKCλ の組織特異的遺伝子欠損マウスを作製・解析し、aPKCλ が哺乳類の様々な組織の上皮形成・維持や代謝に重要な役割を果たしていることを明らかにした (J. Clin. Invest. 112, 935-944, 2003; J. Neuroscience 25, 10290-10298, 2005; Development 133, 1735-1744, 2006)。しかしながら、発がんにおける aPKC の役割は不明のまま残された。そこで、発がん研究が進んでおり、実験系が充実している乳腺組織に着目し、乳腺上皮特異的 aPKCλ 遺伝子欠損マウス (aPKCλ KO マウス) を作成・解析した。その結果 aPKCλ KO 乳腺上皮において、前がん病変である atypical duct hyperplasia (以下 ADH) が引き起された。この ADH では上皮細胞増殖が亢進し、かつ細胞極性が消失していた。一部の ADH は浸潤がんに至り進行した。詳しいメカニズム解析の結果、以下のことを明らかにした。1) aPKCλ KO 乳腺上皮で膜受容体型チロシンキナーゼ erbB2 (HER-2) の mRNA 量と蛋白量が増加し、かつ活性化していた。2) erbB2 量の増大は erbB2 遺伝子増幅非依存的な遺伝子転写調節レベルで起きていた。3) erbB2 阻害剤により、ADH が抑制され、細胞増殖と細胞極性がともに回復した。erbB2 は、ヒト乳がんの 20-30% で遺伝子増幅依存的もしくは非依的に量が増大・活性化して、発がんががんの進行に重要な役割を果たしていることが知られている。以上から、aPKCλ

は未知のメカニズムにより遺伝子発現レベルで erbB2 量を調節し、このことが乳腺上皮組織構築の維持に必須であり、この調節メカニズムの破綻ががん化を引き起すことが示された (aPKCλ の anti-oncogenic 作用)。一方、ヒト肺がんや卵巣がんの 50-60% で aPKC1 が過剰発現しており、がんの進行に促進的に働くことが明らかとなっている。(aPKCλ の oncogenic 作用) (PNAS 2005; Cancer Res. 2005)。しかしながら、この aPKCλ 過剰発現依存的ながんの進行メカニズムについては不明な点が多い。一方で、aPKCλ は転写調節因子 AP1 や NfκB 依存的に細胞増殖を亢進することがわかっている (Akimoto et al. EMBO J. 1996; Biochemical J. 1998)。しかしながら、aPKCλ 過剰発現依存的ながんの進行メカニズムにおける、この aPKCλ 依存的な転写調節経路の役割は不明である。日本人の 3 人に 1 人が、がんが原因で死亡することから、早期の発がんマーカーの開発、従来治療法の改善、治療予測、新規分子標的治療薬の開発などが求められている。本申請研究の成果は、このような将来の臨床応用にも役立つことが期待される。

## 2. 研究の目的

がんは細胞極性が消失した病態であるが、その破綻メカニズムは不明な点が多い。我々は、細胞極性制御因子 aPKCλ の機能解析を切り口として、その一端に迫る。具体的には、aPKCλ を介した乳がん初期の anti-oncogenic 作用と後期の oncogenic 作用について、遺伝子改変マウス・培養細胞系・ヒト検体を材料にして、「遺伝子発現による細胞極性制御」という新たな視点からそのメカニズムの解析を目指す。

## 3. 研究の方法

下記の 2 点に絞って遺伝子改変マウス・培養細胞系・ヒト検体を材料にして、「遺伝子発現による細胞極性制御」という新たな視点からそのメカニズムの解析を目指す。

【1】 aPKCλ を介した oncogenic 作用については、進行性がんにおける aPKCλ 過剰発現依

存的ながんの進行メカニズムの詳細を解析し更にヒト進行性乳がん検体を用いて検証する。【2】 aPKC $\lambda$ を介した anti-oncogenic 作用については、aPKC $\lambda$ を介した erbB2 遺伝子発現調節メカニズムの詳細とその役割を解析し、更にヒト進行性乳がん検体を用いて検証する。

#### 4. 研究成果

【1】 aPKC $\lambda$ を介した oncogenic 作用について

① ヒト乳がん、胃がんと前立腺がんにおいて aPKC $\lambda$  が過剰発現していることを明らかとした。さらに胃がんと前立腺がんにおいて aPKC $\lambda$  過剰発現が再発・再燃と相関することを明らかとした (Human Pathol. 2008; Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009; Ann Surg Oncol. 2010)

② 前立腺がんにおいて、新規 aPKC $\lambda$  依存的な IL6 遺伝子発現経路 (aPKC $\lambda$ -IL6 経路) ががんの増殖に関わることを明らかとした (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009)。

③ この新規 aPKC $\lambda$ -IL6 経路が前立腺がんの再発に関わることを明らかとした (Cancer Sci. 2011)

【2】 aPKC $\lambda$ を介した anti-oncogenic 作用について

④ 乳腺特異的な aPKC $\lambda$  遺伝子欠損マウスがヒトの初期乳がんモデル動物となることを明らかとした (特願 2009-145675)

⑤ 上記モデルマウスの血清から、初期乳がんマーカー候補を同定した (特願 2011-044047)

⑥ 乳腺特異的な aPKC $\lambda$  遺伝子欠損マウスにおける初期乳がんが、乳腺前駆細胞の異常増殖が原因であることを明らかとした。このことから、aPKC $\lambda$  が前駆細胞の増殖制御に関わることを明らかとした (論文投稿中)。

⑦ 上記 aPKC $\lambda$  依存的な前駆細胞の増殖制御に関わる aPKC $\lambda$  依存的な遺伝子発現経路の分子メカニズムを明らかとした。さらにこの経路の破綻がヒト乳がんの約 8% に関わることを明らかとした (論文投稿中)。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. The co-expression of aPKC $\lambda/\iota$  and IL-6 in prostate cancer tissue correlates with biochemical recurrence. Ishiguro H, Akimoto K, Nagashima Y (その他10名) Cancer Sci. 査読有り. in press

2. High Expression of Atypical Protein Kinase C  $\lambda/\iota$  in Gastric Cancer as a Prognostic Factor for Recurrence

Takagawa R., Akimoto K. (全12名中2番目), Ishiguro H. (全12名中7番目), Nagashima Y. (全12名中11番目), Ann Surg Oncol. 17, 81-88 (2010) 査読有り。

3. A cell polarity protein aPKC lambda is required for eye lens formation and growth Sugiyama Y., Akimoto K., Robinson M. L., Ohno S., and Quinlan R. A. Dev Biol. 336, 246-56 (2009) 査読有り。

4. aPKC $\lambda/\iota$  promotes growth of prostate cancer cells in an autocrine manner through transcriptional activation of interleukin-6 Ishiguro H., Akimoto K., Nagashima Y., (その他7名) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106 16369-16374 (2009) 査読有り。

5. An essential role of the universal polarity protein, aPKClambda, on the maintenance of podocyte slit diaphragms. Hirose T, Akimoto K (全10名中6番目) PLoS ONE. 4:e4194 (2009) 査読有り。

6. The overexpression and altered localization of the atypical protein kinase C lambda/iota in breast cancer correlates with the pathologic type of these tumors. Kojima Y, Akimoto K, Nagashima Y, Ishiguro H (その他11名) Hum Pathol. 39:824-31 (2008). 査読有り。

[学会発表] (計 5 件)

1. 細胞極性制御因子 aPKC $\lambda$  による上皮前駆細胞の増殖制御とその破綻 秋本和憲ら 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年 12月10日兵庫県 神戸ポートアイランド  
2. aPKC and IL-6 expression in prostate cancer tissues. Ishiguro H, Akimoto K et al. The 69th Annual Meeting of th

e Japanese Cancer Association 2010年  
9月24日 Osaka Osaka International Con-  
vention Center

3. Atypical Protein Kinase C  $\lambda$  Regulates  
Mouse Mammary Progenitor Cell  
Propagation. Akimoto K. Sixth  
International Symposium on Hormonal  
Oncogenesis 2010年 9月14日 Chiba  
SHERATON GRANDE TOKYO BAY HOTEL
4. The overexpression of the atypical  
protein kinase C  $\lambda/\iota$  in malignant  
melanoma correlates with its  
undifferentiation and metastatic  
ability. Miwa H., Akimoto K., et al. The  
34<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese  
Society for Investigative Dermatology  
2009年12月4-5日 Hakata, JAL Resort Sea  
Hawk Hotel Fukuoka
5. aPKC  $\lambda$  regulates mammary-gland  
morphogenesis through the  
transcriptional suppression of  
ErbB2/HER-2 gene Akimoto K., et al.  
Second JCA-AACR Special Joint Conference  
The Latest Advances in Breast Cancer  
Research. 2008年7月14日 兵庫県立 淡路  
夢舞台国際会議場

[産業財産権]

○出願状況 (計 2件)

1. 名称: 初期乳癌の検出方法

発明者: 秋本 和憲、川崎 博史、平野 久、  
大野 茂男、長嶋 洋治

権利者: 公立大学法人横浜市立大学

種類: 特許

番号: 特願 2011-044047

出願年月日: 2011/3/1

国内外の別: 国内

2. 名称: 初期乳がんモデル用動物

発明者: 秋本 和憲、大野 茂男

権利者: 公立大学法人横浜市立大学

種類: 特許

番号: 特願 2009-145675

出願年月日: 2009/6/18

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋本 和憲 (AKIMOTO KAZUNORI)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号: 70285104

(2) 研究分担者

長嶋 洋治 (NAGASHIMA YOJI)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号: 10217995

(3) 連携研究者

石黒 斉 (ISHIGURO HITOSHI)

横浜市立大学・医学研究科・客員准教授

研究者番号: 00381666