HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Secreted form of EphA7 in lung cancer

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-09-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 坪井, 優 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003398

博士（医学）　　坪井　優

論文題目

Secreted form of *EphA7* in lung cancer

（肺癌における分泌型 *EphA7*）

論文の内容の要旨

［はじめに］

Erythropoietin producing hepatocellular 受容体（EPH）ファミリーは、受容体型チロシンキナーゼであり、種々のがんの発生から進行までの様々な過程に関与することが知られている。同ファミリーに属する EPHA7 についても、発がんとの関連性が幾つかのがんで報告されているが、ヒト肺癌では、この分子の役割についての研究は極めて少ない。

本研究では、肺癌由来細胞株における EPHA7 の転位の有無を探索しようとした実験過程で、ヒト固形腫瘍では今まで知られていなかった分泌型 EPHA7 の転写産物（*EPHA7-S*）を見出した。本論文は、この知見を敷衍し、ヒト肺癌を含む各種のヒト細胞株及びヒト肺癌組織における *EPHA7-S* の発現状況を検討したものである。

［材料ならびに方法］

細胞株については、正常肺細胞由来3種（SAEC、16HBET14o-、WI-38）、肺腺癌由来10種（H358、H820、H2087、A549、HLC-1、RERF-LC-MS、RERF-LC-KJ、LC-2/ad、VMRC-LCD、PC-3）、肺扁平上皮癌由来1種（ABC-1）、肺大細胞癌由来4種（H460、H1299、LU65、PC-13）、肺小細胞癌由来5種（H526、H1688、TKB-2、Lu-130、Lu-135）、結腸腺癌由来3種（HCT116、HT29、DLD-1）、胃腺癌由来8種（AGS、HSC-39、KATO3、MKN-1、MKN-28、MKN-45、MKN-74、TMK-1）、食道扁平上皮癌由来4種（A431、HSC-2、HSC-3、HSC-4）を用いた。肺組織については、書面によるインフォームドコンセントの下、原発性肺癌の患者より採取した。

3’-RACE では、ヒト *EPHA7* 遺伝子の第 4 エクソンよりも下流の配列を増幅させた。次に、RACE 産物の配列を、遺伝子特異的プライマーを用いて解析し、あらたな塩基配列を得た。この産物は、直近に登録されていた *EPHA7-S* であることが判明したので、更に細胞株及び肺組織における *EPHA7-S* の発現プロファイルを解析すべく、*EPHA7* 遺伝子の第 4 エクソン及び第 5 イントロン上に設計したプライマーを用いて PCR を行い、その増幅産物を確認した。

［結果］

転位による EPHA7 の融合相手を探索すべく、PC-13 細胞及び H82 細胞を用いて、*EPHA7* 遺伝子の第 4 エクソンの下流配列を 3’-RACE 法により調べた。その結果、融合相手を見出すことは出来なかったが、第 5 エクソン末端に第 5 イントロンの配列が続く転写産物を同定した。この転写産物から推定された EPHA7 分子は、細胞膜貫通ドメイン～細胞内ドメインを欠く分泌型 EPHA7 と考えられた。

次いで、様々な肺癌あるいは胃癌由来細胞株における同変異体の発現状況を RT-PCR 法によ

り検討した所、肺癌由来細胞株では 16/21 株に、胃腸管癌由来細胞株では 1/15 株にその発現が認められた。原発性肺癌の組織検体では、*EPHA7-S* の発現は、非腺癌の 8/23 例（扁平上皮癌：6/17 例、小細胞癌：1/2 例、大細胞癌：1/4 例）に認められたが、腺癌では、2/50 例にしか認められなかった。なお、性別、ブリンクマン指数（BI）あるいは TNM 分類と *EPHA7-S* 発現との間に関連性は認められなかった。

［考察］

EPHA7-S が肺癌由来細胞株及び肺癌組織に発現していることを見出した。同発現は、肺癌由来細胞株の多くで認められたが、ほとんどの胃腸管癌由来細胞株では認められなかった。肺癌組織では、*EPHA7-S* の発現が、非腺癌の多数例で認められたが、腺癌では少数例にしか認められなかった。これらの知見は、原発性肺癌のうち組織学的に非腺癌と目される例において、*EPHA7-S* の発現が高頻度にみられることを示しており、一般に予後が悪いとされ、比較的指標が少ないとされるカテゴリーに属する肺癌の鑑別診断の一助となり得ることを示唆するものである。肺の非腺癌は、腺癌に比し喫煙との関連性が高いことが知られていることから、今回 *EPHA7-S* が非腺癌でより高頻度に認められたことは、*EPHA7-S* 発現と喫煙誘発性肺癌との関連性を示唆する可能性がある。しかし、本研究では、喫煙状況を示す BI と *EPHA7-S* 発現との間に有意な関連性は認められず、*EPHA7-S* と喫煙の関連性の解明には、更なる研究を要すると考えられた。

EPHA7 遺伝子のヒトがんとの関連については、当教室で、同遺伝子のプロモーター領域の不活性化による腫瘍の抑制、つまり、がん抑制遺伝子としての位置付けが、結腸直腸癌において為されており、諸外国の追試でも同様である。また、*EPHA7-S* の発現低下は、悪性リンパ腫の形成に関与することも推測されている。一方、本研究では、多数例の肺癌組織に *EPHA7-S* の明確な発現が認められたことから、肺の *EPHA7-S* は、がん抑制遺伝子とは異なる機能を発揮している可能性もある。今後、如何なる状況下で *EPHA7-S* 発現が誘導されるのか、その意義と共に更に詳細な研究を行う必要がある。

［結論］

EPHA7-S がヒト肺癌由来の細胞株及び肺癌組織に発現することを初めて見出した。ヒト固形腫瘍での *EPHA7-S* の存在の発見は世界で初めてあり、更にその発現は肺癌の一部の臨床病理型でとくに高頻度にみられ、今後臨床的応用や生物学的意義の解明が待たれる。