

CD82/KAI1によるWntシグナル経路制御機構 : miR-203を介したFrizzled-2の発現調節

峯, 真理子

<https://hdl.handle.net/2324/1500619>

出版情報 : 九州大学, 2014, 博士(歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (3)



氏 名 : 峯 真理子

論 文 名 : CD82/KAI1 による Wnt シグナル経路制御機構
—miR-203 を介した Frizzled-2 の発現調節—

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

テトラスパニン・スーパーファミリーに属する CD82/KAI1 は癌転移抑制因子として細胞膜に存在し、受容体の機能を制御することが知られている。当分野では、CD82 が Wnt タンパクの受容体である Frizzled (FZD) 2, -3, -5, -7, -9 の発現を抑制し、Wnt/ β -catenin 経路を制御することで β -catenin の核移行を抑制し、その結果 β -catenin を細胞膜に局在集積させることを明らかにした。これにより、細胞膜に安定化された E-cadherin/ β -catenin 複合体が癌細胞間接着を強固にし、癌細胞の原発巣からの離脱を抑制すると考えられた。

FZD は Wnt の受容体として発生期や癌の浸潤転移機構に重要な役割を果たしているが、その発現調節機構については明らかになっていない。そこで本研究では、CD82 による Wnt シグナル経路を介した癌転移抑制機構における FZD の発現調節メカニズムを、microRNA (miRNA) に注目し、CD82 低発現ヒト非小細胞性肺癌細胞株 h1299 に遺伝子導入して樹立したコントロール細胞株 h1299/zeo、CD82 強制発現細胞株 h1299/CD82、short hairpin RNA (shRNA) ベクター導入による安定的 CD82 ノックダウンコントロール細胞株 h1299/CD82-sh.control、CD82 ノックダウン細胞株 h1299/CD82-sh.CD82 を用いて検討した。

FZD2, -3, -5, -7, -9 の mRNA 配列から、これらを標的とする可能性のある miRNA を、遺伝子データベース検索プログラムを用いて検索を行った。その結果、FZD2, -3, -5, -7, -9 の mRNA を共通して標的とする可能性が高いと予想された miRNA は、*miR-27a*, *miR-27b*, *miR-145*, *miR-185*, *miR-197*, *miR-203*, *miR-221*, *miR-222*, *miR-338-3p*, *miR-376a*, *miR-376b* であった。そこで、h1299 細胞におけるこれらの miRNA 発現に対する CD82 の影響をリアルタイム PCR 法にて解析した。これらの miRNA のうち、CD82 強制発現により *miR-203* の発現が亢進し (2.095 倍)、*miR-338-3p* の発現は抑制 (0.354 倍) されていた。以上の結果より、CD82 が *miR-203*, *miR-338-3p* の発現を制御し、これらの miRNA が FZD 発現に影響を与える可能性が示唆された。次に、*miR-203*, *miR-338-3p* に対する hairpin inhibitor および mimic miRNA を h1299 細胞へ導入することにより、実際に FZD の発現に影響を与えるか検討を行った。h1299/zeo に *miR-203* mimic を導入した h1299/zeo/*miR-203* mimic では mRNA レベルおよびタンパクレベルで FZD2 の発現が低下し、h1299/CD82 に *miR-203* inhibitor を導入した h1299/CD82/*miR-203* inhibitor では FZD2 の発現が上昇した。一方、*miR-338-3p* の導入により FZD の発現に変化は認めなかった。Wound healing assay にて細胞遊走能を検討したところ、h1299/zeo/*miR-203* mimic ではコントロールと比較して細胞遊走能が低下し、h1299/CD82/*miR-203*

inhibitor では亢進していた。一方 *miR-338-3p* の導入により細胞遊走能に変化は認めなかった。

これらの結果から、CD82 は *miR-203* の発現を亢進させ、その結果 FZD2 の発現を抑制し、Wnt シグナル経路の制御を介して癌の浸潤転移を抑制することが示唆された。