

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Frequent downregulation of *LRRC26* by epigenetic alterations is involved in the malignant progression of triple-negative breast cancers (エピジェネティックな変化による *LRRC26* の発現低下によってトリプルネガティブ乳癌は悪性度を促進する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 器官・代謝制御系

乳腺内分泌外科学 (指導教授 富田 尚裕)

氏 名 宮川 義仁

トリプルネガティブ乳癌 (TNBC) は、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、HER2 タンパクの発現を欠くことから、治療標的分子が限られ、他のサブタイプよりも予後不良である。また、それら受容体陰性という共通性だけで分類され、生物学的特性が依然不明な TNBC の特性の解明は、TNBC に有効な治療薬開発には極めて重要である。我々は、TNBC の分子特性解明のために、TNBC 臨床検体を用いた RNA シーケンシング (RNAseq) による発現解析を行った。その結果、TNBC15 例中 10 例において、腫瘍組織における *LRRC26* (Leucine-rich repeat-containing 26) 遺伝子の発現が同一症例の非腫瘍部に比して有意に低下していることがわかった。次に、追加した TNBC26 症例におけるリアルタイム PCR 法による検証では、16 症例の腫瘍組織における *LRRC26* 発現の有意な低下が認められ、さらに臨床的所見について解析したところ、*LRRC26* の低発現症例は組織学的グレードが有意に高いことが認められた ($p=0.017$)。さらに、大規模な公的データベース TCGA (The Cancer Genome Atlas) の RNAseq データセットにおいても、TNBC (123 症例) における *LRRC26* の発現低下が確認された ($p<0.001$)。続いて、*LRRC26* の発現低下の原因として DNA メチル化に着目した。12 症例の TNBC 由来ゲノム DNA を用いて、*LRRC26* 遺伝子の 2 か所の CpG 部位に対する Bisulfite pyrosequencing 解析では、腫瘍組織にていずれの部位でも有意なメチル化率の亢進を認め ($p=0.0015$, $p=0.0024$)、さらに DNA 脱メチル化剤 5-aza-2'-dc による *LRRC26* の発現回復も認めた。このことは、TCGA のデータセット解析にて、全乳癌症例 (625 症例) 中 TNBC 症例 (114 症例) における DNA メチル化率の有意な亢進からも証明された ($p<0.001$)。次に、TNBC 細胞の *LRRC26* 発現低下の役割の解明のため、TNBC 細胞株 HCC70 にて siRNA による *LRRC26* の発現抑制を行った。その結果、足場非依存性増殖能、遊走能および浸潤能の亢進を認めた。続いて、*LRRC26* 発現低下による悪性度促進に関連する経路を探索するため、DNA microarray による遺伝子発現解析に基づいた clustering annotation 解析を行った結果、*LRRC26* の発現低下が糖鎖修飾関連経路に有意な相関を示した。さらに、*LRRC26* 低発現 TNBC 乳癌細胞株 BT20 を用いた過剰発現実験にて、*LRRC26* は小胞体局在タンパク質 GRP78 および BAP31 と小胞体にて共局在することが確認された。以上より *LRRC26* の発現は TNBC において DNA メチル化によって低下して TNBC の組織学的グレードの亢進をもたらすこと、さらに足場非依存的な増殖能、浸潤能および遊走能の促進に寄与することがわかった。また、*LRRC26* 遺伝子の発現低下に伴う乳癌細胞の悪性化には、小胞体での *LRRC26* による糖鎖修飾阻害を介したタンパク合成低下の関与の可能性が示唆された。