

論文内容要旨

Overexpression of the transmembrane protein BST-2 induces Akt and Erk phosphorylation in bladder cancer

(膀胱癌における膜貫通型蛋白質 BST-2 の
高発現は Akt と Erk のリン酸化を誘導する)
ONCOLOGY LETTERS, 14: 999-1004, 2017.

主指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：松原 昭郎教授

(医歯薬保健学研究科 腎泌尿器科学)

副指導教員：大上 直秀准教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

重松 慶紀

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

膀胱癌の中でも筋層浸潤性膀胱癌（muscular-invasive bladder cancer: MIBC）は予後不良であるが、現在有効な治療標的分子はほとんど明らかとなっておらず、その開発は急務である。一方、細胞表面蛋白質・分泌蛋白質は癌のマーカー・治療標的分子として有用とされている。CAST（*Escherichia coli* ampicillin secretion trap）法は、細胞表面蛋白質・分泌蛋白質をコードする遺伝子の同定に有用とされる実験手法である。当研究室では以前 CAST 法を用いて、胃癌細胞株において高発現している遺伝子として *BST-2* を同定した。*BST2* は II 型膜貫通型蛋白質である Bone Marrow Stromal Cell Antigen 2 (BST-2) をコードする遺伝子である。当研究室の検討では、*BST2* 遺伝子は胃癌組織において高発現し、*BST2* を阻害することで胃癌細胞株の増殖が抑制されることを明らかにしており、新規治療標的となる可能性が示唆されている。*BST-2* の高発現は、胃癌の他、多発性骨髄腫、腫瘍性 B 細胞、卵巣癌、乳癌、子宮内膜癌、肺癌などでも見いだされており、多発性骨髄腫マウスモデルを用いた解析では、抗 *BST-2* モノクローナル抗体により腫瘍縮小効果と予後の改善が得られたと報告されている。このような *BST-2* モノクローナル抗体による抗体依存性細胞障害は、幅広いヒト悪性腫瘍で見られる可能性がある。しかし、*BST-2* の膀胱癌における発現とその意義については、これまで全く検討されていない。そこで本研究では、膀胱癌における *BST-2* の発現と臨床病理学的因子との関連を検討し、その機能について膀胱癌細胞株を用いて解析した。

14 種類のヒト全身正常臓器および膀胱癌組織 8 例を材料に、定量的 RT-PCR で *BST2* の発現を検討したところ、正常臓器では肺、胃、骨髄、肝臓において *BST2* の発現が比較的高く認められたが、膀胱癌組織ではさらに高い発現レベルであった。当院で 2003 年 4 月から 2007 年 3 月までに施行された膀胱全摘除症例の膀胱癌組織ホルマリン固定パラフィン包埋切片を材料に免疫染色を施行したところ、非腫瘍部粘膜では *BST-2* の発現はほとんど認められなかったが、69 例中 28 例（41%）において膀胱癌細胞の主に細胞膜に *BST-2* の発現が認められた。*BST-2* の発現と臨床病理学的因子との関連を検討したところ、T grade に関しては、Ta/is/1 症例と比較し T2/3/4（MIBC）症例で有意な相関が認められた（ $p < 0.001$ ）。免疫染色の結果を用いて *BST-2* の発現と予後との関連を検討したところ、*BST-2* 陽性例と陰性例では有意な予後の差は認められなかった（ $p = 0.460$ ）。

次に、BST-2 の膀胱癌における機能を明らかにするため細胞株を用いた検討を行った。膀胱癌細胞株 T24 と KMBC2 を用いて western blot 法で BST-2 の発現を検討したところ、T24 では高レベル、KMBC2 では低レベルであった。そこで、T24 に対して siRNA を用いて BST-2 のノックダウンを行い、MTT assay で増殖能を評価した。その結果、negative control と比較して BST-2 をノックダウンしたもので、増殖能が有意に抑制された。KMBC2 に対しては、*BST2* 発現ベクターを導入し BST-2 を過剰発現させた状態で、同様に増殖能を検討した。*BST2* 発現ベクター導入株では control に比べて増殖能が有意に亢進した。以上のことから BST-2 は腫瘍増殖に促進的に機能することが明らかとなった。

BST-2 が癌の増殖に関与する分子機構を知るために、ERK-MAPK 経路、PI3K-AKT 経路との関連を Western blot 法を用いて検討した。BST-2 をノックダウンすることで negative control と比較し ERK 及び AKT のリン酸化が抑制され、*BST2* を強制発現することで control と比較し ERK 及び AKT のリン酸化が亢進した。したがって、BST-2 はこれらの経路を利用して癌の増殖に関与していると考えられた。

以上の結果から、BST-2 は膀胱癌において高発現し、特に筋層浸潤と有意に相関することが示された。さらに、BST-2 は ERK-MAPK および PI3K-AKT 経路を介して膀胱癌の増殖に促進的に機能していた。BST-2 は癌に特異性が高い細胞表面膜蛋白質であり、膀胱癌においても有用な治療標的分子であると考えられた。