

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	X連鎖プロテインキナーゼNr1h3欠損マウスに発症する乳腺腫瘍の解析
Title(English)	
著者(和文)	柳川享世
Author(English)	Takayo Yanagawa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10292号, 授与年月日:2016年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:駒田 雅之,太田 裕之,近藤 科江,立花 和則,中村 信大
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10292号, Conferred date:2016/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

X連鎖プロテインキナーゼNrk欠損マウスに発症する乳腺腫瘍の解析

【要旨】

妊娠期には女性ホルモンであるエストロゲン依存的に乳腺上皮細胞が増殖し、授乳に備えて乳腺組織が発達する。しかし、ひとたび妊娠後期に乳腺が十分に発達すると細胞増殖は抑制される必要があり、この制御機構の破綻は乳腺上皮細胞の腫瘍形成・がん化につながる。事実、乳腺腫瘍の発症またはその成長は、少なくとも部分的にはエストロゲンによって制御されていることが知られている。ヒト乳がんのサブタイプの1つであるluminal型では、ホルモン療法としてエストロゲン受容体に拮抗的に結合するタモキシフェンなどでエストロゲンの作用を抑制することにより、乳がんの成長を阻害している。しかし、妊娠後期に乳腺上皮細胞の増殖を抑制する分子機構は解明されていない。NrkはX染色体にコードされるセリン/スレオニン特異的プロテインキナーゼである。本研究では、妊娠・出産を経験したNrkホモ欠損およびヘテロ欠損の雌マウスに高頻度で乳腺腫瘍が発症することを見出し、この腫瘍の病理組織学的解析と腫瘍発症の分子機構について解析を行った。

Nrkホモ欠損、Nrkヘテロ欠損、および野生型の雌マウス各10匹を生後2か月目から野生型の雄と交配させつつ、18か月間飼育して乳腺腫瘍の発症を記録した。その結果、野生型マウスにおける発症頻度が10%であったのに対し、Nrkホモ欠損では90%、ヘテロ欠損では50%のマウスにおいて乳腺腫瘍が観察された。この腫瘍は妊娠・出産の経験のないNrk欠損マウスでは決して観察されなかったことから、妊娠期における乳腺上皮細胞の増殖と関連するものであることが強く示唆された。形成した乳腺腫瘍を摘出し、腫瘍切片のヘマトキシリン・エオジン染色により核型の判定や浸潤の有無を病理組織学的に検証した結果、この腫瘍は非浸潤性の比較的悪性度の低い癌を含む腫瘍であることが明らかとなった。また、エストロゲン受容体、細胞増殖のマーカーであるKi67タンパク質、およびある種のサブタイプのヒト乳がんを高発現するErbB2/HER2に対する抗体で腫瘍切片の免疫組織染色を行い、それらタンパク質の発現細胞数を定量化することでヒト乳がんのサブタイプ分類に当てはめることを試みた。その結果、Nrk欠損マウスにおける乳腺腫瘍はエストロゲン受容体陽性、Ki67陽性、ErbB2陰性であり、ヒト乳がんのサブタイプ分類ではluminal-B型に近いことが明らかとなった。次に、腫瘍を発症していないNrk欠損マウスの乳腺に異常が見られないか、非妊娠期と妊娠後期の乳腺の組織切片を病理組織学的に観察した。その結果、非妊娠期と妊娠後期のいずれにおいても野生型とNrk欠損のマウス乳腺の形態に明らかな差はなく、乳腺組織における乳腺上皮細胞の占有率は同程度であった。それぞれの乳腺組織から全RNAを抽出し、Nrk、エストロゲン受容体、そしてエストロゲン生合成の律速酵素であるP450アロマトラーゼ (Cyp19a1) のmRNA発現量を定量PCRにより比較した結果、非妊娠期には全くNrk発現の見られない乳腺において妊娠後期にその発現が強

く誘導されることが明らかとなった。エストロゲン受容体とP450アロマターゼについては、野生型と*Nrk*欠損の乳腺間で非妊娠期と妊娠後期のどちらにおいても発現量に有意差は認められなかった。次に、*Nrk*がエストロゲン受容体の発現や転写因子活性を直接制御している可能性を検討するため、ヒト乳がん由来細胞株MCF-7に*Nrk*を強制発現させ、内在性のエストロゲン受容体の発現量、リン酸化レベル、そして転写因子活性におよぼす効果を検討した。その結果、*Nrk*の過剰発現によってそれらに変化を検出することはできず、エストロゲン受容体は*Nrk*の直接のリン酸化基質ではないと考えられた。さらに、妊娠17.5日目の母体の血液を採取し、質量分析によりエストラジオールとプロゲステロンの血中濃度を測定するとともに、卵巣におけるP450アロマターゼのmRNA発現量を定量PCRにより調べることで、*Nrk*欠損マウスにおける血中ホルモン濃度の異常の有無を検討した。その結果、*Nrk*欠損マウスにおいて妊娠後期の血中エストロゲン濃度が上昇しており、*Nrk*がエストロゲンの合成・分泌の制御にも関与している可能性が示唆された。しかし、エストロゲンの主要産生組織である卵巣におけるP450アロマターゼの発現レベルには野生型と*Nrk*欠損マウスの間で差が見られず、*Nrk*欠損による血中エストロゲン濃度上昇の分子機構は不明である。

以上の結果から、マウスにおいて*Nrk*は妊娠後期の乳腺組織において発現誘導され、エストロゲン-エストロゲン受容体システムに依存した乳腺上皮細胞の増殖を負に制御すること、そしてその破綻が乳腺腫瘍につながることを解明された。