HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肺癌の組織型によるNotch1/Numb発現とNumbの機能の違いに関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	菊池, 創
Description	配架番号：2373
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12994号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70393
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hajime_Kikuchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏名　菊　池　創

学 位 論 文 題 名

肺癌の組織型による Notch1/Numb 発現と Numb の機能の違いに関する研究
(Studies on the expression of Notch1/Numb and distinct function of Numb in different histological types of lung cancer)

【背景と目的】1 つの臓器である肺を起源とする癌であっても、組織型によって大きく性質が異なることからシグナルの機能の違いを検討し、組織型に基づいた標的治療開発や薬剤耐性獲得機序を考えていくことが重要である。Notch 蛋白は細胞表面に存在する一回膜貫通型受容体蛋白ファミリーである。Notch シグナルは種々の細胞の発生・分化・増殖など細胞の運命決定に重要な役割を果たしている。多くの癌種で Notch pathway の異常活性と癌化に密接な関連があり、癌種によって activator とも suppressor とも報告されている。非小細胞肺癌（NSCLC）においては Notch1 の active mutation が 10%前後に認められ、さらに Notch1 発現の上昇が予後の悪化と関連することが示されている。一方で肺扁平上皮癌(SCC)においては Notch の inactive mutation が報告されており、Notch が癌増殖において抑制的に働くと考えられている。小細胞肺癌（SCLC）に関しては、Notch1 が G1 cell cycle arrest を誘導し細胞増殖や上皮間葉転換（EMT）を抑制することが報告されている。Numb は Notch シグナルの negative regulator であり、ユビキチンリガーゼ(E3)Itch との相互作用により Notch 受容体・Notch 細胞内ドメイン(NICD)をユビキチン化・分解し、Notch シグナルを抑制する。また Numb は NICD に直接結合し、NICD の核への移行を阻害する。食道癌や乳癌において、Numb の過剰発現は Notch シグナルを抑制することで腫瘍細胞増殖や EMT を抑制し、さらに Numb 低発現が予後不良と相関していることが報告されている。一方で、肝細胞癌においては、Numb は細胞増殖を促進し Numb 高発現が予後不良と関連していることが示されている。NSCLC においては Numb 発現の低下や Numb 発現と Hes1 発現に負の相関があることが報告されているが、NSCLC 腫瘍発生における Numb の役割や Numb 発現と予後との関連については不明である。また、Numb と神経内分泌分化や SCLC を含めた神経内分泌腫瘍との関連を検討した研究は現時点ではまだない。

【対象と方法】SCLC・NSCLC 臨床検体を用いて、活性型 Notch である NICD1/Numb 発現と予後との関連について検討した。さらに、肺腺癌（ADC）細胞株（A549、PC9）、SCC 細胞株（H520、H1703）を用いて、Numb knockdown・Numb overexpression による増殖能・移動能・浸潤能の変化と Notch pathway および EMT マーカーの変化に関して検討した。

【結果】SCLC 症例において NICD1 高発現群は有意に予後が良好であったが、Numb 発現と予

後に有意な関連を認めなかった。肺 ADC 症例において Numb 高発現と予後に有意な相関を認め、Numb が肺 ADC において予後良好因子であることが示された。また、Numb が肺 ADC において増殖能・移動能・浸潤能を抑制し、EMT を阻害することが示された。さらに、肺 ADC 臨床検体において Numb 発現と NICD1 発現に有意な負の相関を認め、肺 ADC 細胞株において *in vitro*、*in vivo* ともに Numb は Notch 経路を抑制した。肺 SCC においては Numb 発現と予後に有意な相関を認めなかったが、Notch1 高発現群は予後がよい傾向を認めた。細胞実験では、Numb は肺 SCC 細胞の増殖能・移動能・浸潤能を促進したが、今回評価した EMT マーカー(E-cadherin、Vimentin、Snail)の発現は有意な変化を示さなかった。また、Numb knockdown では Notch シグナルの一貫した変化を認めなかったが、Numb overexpression では NICD4 や Hes1/Hey1 の発現低下を認めた。

【考察】Notch1 発現と SCLC の予後を検討した報告は現時点ではまだなく、今回の結果は初めての報告となる。今回の結果は、SCLC において Notch が腫瘍抑制的に機能するという既報に矛盾ないものであった。Numb については SCLC において Notch1 以外の Notch 受容体、もしくはその他の経路との関連が強い可能性が考えられた。

NumbはNotch1受容体のユビキチン化を促進しNICD1の核への移動を阻害することでNotchシグナルを阻害することが報告されている。また我々は、Notchシグナル阻害薬であるγセクレターゼ阻害薬によるNotchシグナルの抑制がNSCLCの増殖を阻害することを以前示した。さらに、Notch経路はEMTの重要な調節因子であることが報告されている。これらと今回の結果から、Numbは肺ADCにおいてNotchシグナルの阻害を介して細胞増殖やEMTを抑制していると考えられた。

今回肺 SCC において Numb は増殖能・移動能・浸潤能を促進したが、E-cadherin、Vimentin、Snail の発現は有意な変化を示さなかった。卵巣癌細胞において、N-cadherin や Claudin-1 が E-cadherin などの EMT マーカーの発現を変化することなく移動能を促進したという報告がある。これらのような今回検討していない因子が肺 SCC における Numb による EMT 調節に関与している可能性があり今後検討が必要と考えられた。また、既報の多くは Numb と NICD1 との相互作用について検討されており、NICD2-4 と Numb との相互作用については不明である。今回の結果から、肺 SCC においては Numb による Notch1 以外の Notch 受容体の調節が一部関与している可能性が考えられた。さらに、Numb は肝細胞癌において細胞増殖や cell cycle を促進しており、その機序として p21 の抑制や CDK4・SKP2 の調節が報告されている。Numb は Notch シグナルの抑制に加えて、上記のような cell cycle 関連因子との相互作用を介して肺 SCC の増殖を促進している可能性が示唆され、今後の検討が必要と考えられた。

【結論】肺癌の組織型により NICD1 と Numb の発現と予後との関連は異なっており、ADC と SCC では Numb に異なった機能があることが示唆された。今後更なる実験データや臨床試験が必要であるが、今回の結果から SCLC においては Notch1 が、肺 ADC においては Numb が新たな治療ターゲットとなり得ると考えられる。