

博士論文 (要約)

小細胞肺がんの悪性化における
細胞接着分子 **CADM1** の機能解析

船城 桐子

博士論文の要約

論文題目 小細胞肺がんの悪性化における細胞接着分子 CADM1 の機能解析

氏名 舩城桐子

小細胞肺がん (Small cell lung cancer : SCLC) は非小細胞肺がんと比較して増殖が速く、早期から転移が認められる難治がんである。初回化学療法は奏功するが再発率が高く、5 年生存率は 10%以下と予後不良である。遺伝子異常は *TP53*、*RB1* の欠失が 90%以上の症例で認められるが (George *et al*, 2015)、治療標的となるドライバー変異の頻度が低く、分子標的薬の開発が遅れている。

先行研究において細胞接着分子 CADM1 (Cell adhesion molecule1) は、ヒト SCLC 培養細胞株の 90% に高発現しており、ヌードマウスにおいて腫瘍原性を促進することを明らかにしている (Kikuchi *et al*, 2012)。また CADM1 は正常組織では精巣でしか発現しないスプライシングバリエント v8/9 を SCLC 特異的に発現しており、その細胞外領域の遊離断片は SCLC の診断マーカーとして有用であることを当研究室で報告している (特許: CADM1 v9 認識抗体)。そこで本研究は SCLC の悪性化における CADM1 の機能を明らかにし、SCLC の新たな治療標的の開発の一助とすることを目的として行った。

まず SCLC における CADM1 発現の病理学的意義と発現制御機構の解析を行った。SCLC 病理組織における CADM1 の発現を免疫組織化学により解析したところ、CADM1 は SCLC 症例に高頻度に発現していることが明らかになった。また CADM1 の発現と神経内分泌マーカーの発現を免疫染色化学により解析したところ、CADM1 の発現は神経内分泌マーカーの発現と相関を示した。さらに SCLC における高発現機構の解析を、プロモーターアッセイを用いて行い、CADM1 の発現に寄与する転写因子を明らかにした。

また SCLC モデルマウスを作製し、個体レベルにおける CADM1 の機能解析を行った。その結果、CADM1 は SCLC モデルマウスの転移の促進に寄与することが示唆された。

次に SCLC の増殖と転移における CADM1 の機能解析を行った。ヒト SCLC 培養細胞株を用いてヌードマウスにおける皮下腫瘍増殖を評価したところ、CADM1 の発現により皮下腫瘍増殖が有意に促進された。また、ヌードマウスにおける転移実験を行ったところ、CADM1 の発現により転移が促進した。このことから CADM1 は SCLC 細胞の増殖および転移の両方を促進することが示唆された。

次に CADM1 による増殖促進に重要な CADM1 の責任領域を同定したところ、細胞内領域の 4.1 タンパク質結合モチーフが重要であり、さらに SCLC において 4.1 タンパク質結合モチーフに相互作用する分子として 4.1R を同定した。免疫蛍光染色を用いて CADM1 の局在と 4.1R の局在を解析したところ、CADM1 は 4.1R を特異的に細胞膜にリクルートすることが示された。また

コロニー形成アッセイおよび SCLC 症例の解析から、CADM1 と 4.1R の複合体が SCLC の悪性化に重要であることが示された。次に、増殖促進に寄与するシグナル分子を明らかにするため、機能既知の低分子阻害剤ライブラリーを用いて、CADM1 発現株の増殖のみを抑制する薬剤を絞り込み、候補分子を複数種同定した。実際にヒト SCLC 培養細胞の CADM1 ノックダウン細胞を用いて候補シグナル分子の活性をウェスタンブロッティングにより確認したところ、CADM1 の発現抑制により候補シグナル分子の活性が低下することを確認した。さらに、ヌードマウス皮下移植において、候補シグナル分子の活性阻害剤を投与したところ、CADM1 発現株においてのみ腫瘍増殖が有意に抑制され、CADM1 による SCLC 細胞の腫瘍増殖の促進に関わる分子機構が明らかになった。

本研究により、CADM1 は SCLC の増殖および転移を促進することが示された。CADM1 は細胞表面分子であり、治療標的となり得ることから、抗体薬物複合体など、難治がんである SCLC の新規治療法への応用が期待される。

なお本研究の一部の内容は 5 年以内に出版予定である。