



クロライドチャンネル LRRC8A が胃癌の進展を制御する メカニズムを解明

～LRRC8A と癌抑制遺伝子 p53 の関連について～

京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学 大学院生 倉島研人、学内講師 塩崎敦、教授 大辻英吾ら研究グループは、クロライド(Cl⁻)チャンネル LRRC8A が胃癌の進展に關与するメカニズムを解明し、本件に關する論文が、科学雑誌『Gastric Cancer』に(2021年4月16日)付けで掲載されましたのでお知らせします。

本研究は、Cl⁻チャンネル LRRC8A が胃癌細胞の機能に与える影響、および LRRC8A 発現の臨床における意義を明らかにしたもので、LRRC8A が p53 シグナル経路を介して胃癌細胞の増殖、アポトーシス、遊走能、浸潤能などに影響することや、その高発現が予後不良因子の一つであることを解明しました。本研究成果をもとに、今後は予後予測マーカーとしての LRRC8A の利用および LRRC8A を標的とした新たな癌治療法開発が期待されます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Gastric Cancer 発表媒体 <input checked="" type="checkbox"/> オンライン速報版 <input type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国 日本 オンライン閲覧 可 (https://link.springer.com/article/10.1007/s10120-021-01187-4) 掲載日 2021年4月16日
論文情報	LRRC8A influences the growth of gastric cancer cells via the p53 signaling pathway (LRRC8A の p53 シグナル経路を介した胃癌細胞に対する影響について) 筆頭著者 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 倉島研人 責任著者 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 塩崎敦 共同著者 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 工藤道弘 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 清水浩紀 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 有田智洋 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 小西博貴 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 小松周平 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 窪田健

	京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 藤原斉 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 岡本和真 京都市立病院・病理診断科 岸本光夫 京都府立医科大学大学院医学研究科・人体病理学 小西英一 京都府立医科大学大学院医学研究科・消化器外科学 大辻英吾
研究情報	研究課題名 <ul style="list-style-type: none"> ● 癌幹細胞に発現する電位依存性カルシウムチャネルを標的とした胃癌新規治療法の開発（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)20K09016) ● 胃癌における容積活性化アニオンチャネル VAAC の機能解析と低浸透圧療法への応用（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)20K09084) ● 食道癌における容積感受性チャネル蛋白 LRRC8A の機能解析と低浸透圧療法への応用（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)18K08628) ● 胃癌幹細胞特異的に発現するイオンチャネルの解析と新規分子標的治療法の開発（日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C)18K08689) 代表研究者 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器外科学・塩崎敦

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

細胞外の浸透圧の変化に対する細胞の体積維持のメカニズムは、細胞の恒常性維持において重要であるとされています。細胞に低浸透圧刺激を加えた際に、膨張した細胞体積を減少させる機構を Regulatory volume decrease (RVD) と言います。この RVD において Volume-regulated anion channel (VRAC) が重要な役割を果たすことが指摘されていましたが、今回この研究の対象となった Leucine-rich repeat-containing protein (LRRC8A) はその VRAC の主要構成因子として知られています。

当研究室では、様々なイオンチャネルの発現が消化器癌の進展や機能に影響を与えることを明らかにして来ました。LRRC8A は食道癌や大腸癌、肝細胞癌においてその進展に関与することが研究報告されていましたが、胃癌に関する報告は未だありませんでした。

2 研究内容・成果の要点

まず胃癌細胞株 (NUGC4, MKN74) に LRRC8A の siRNA を導入し、ノックダウン実験を行いました。LRRC8A のノックダウンによる細胞機能への影響を調べたところ、細胞増殖の抑制、細胞周期の進行の阻害、アポトーシスの促進、細胞の遊走能・浸潤能の抑制などの影響が見られました。これら LRRC8A の細胞機能への影響の分子生化学的なメカニズムを調べるため、マイクロアレイ解析を行い、LRRC8A をノックダウンした細胞での遺伝子発現の変化を調べました。

さらに Ingenuity Pathway Analysis (IPA) software を用いてシグナル経路の解析を行ったところ、主要なシグナル経路の一つとして p53 シグナル経路が抽出されました。この pathway の中でも JNK, p21, FAS, Bcl-2 などの遺伝子の発現が変化しており、これらが細

胞機能に大きな影響を与えているものと考えられました。

これらの遺伝子の発現および活性を確認するために LRRC8A をノックダウンした細胞を用いて、ウエスタンブロットを行ったところ、いずれの細胞株でも LRRC8A のノックダウンにより JNK, p53 のリン酸化が促進、活性化され、p21 の発現が上昇していることが確認できました(図 1)。

次に LRRC8A が p53 や細胞機能にどのように影響を与えるかを検討するため、低 Cl⁻ 刺激による細胞への影響を調べました。Cl⁻ を除いた培地でこれら細胞株を培養し、細胞内の Cl⁻ 濃度の変化や、細胞機能および p53 の発現を調べました。結果、低 Cl⁻ 刺激により細胞増殖は低下し、p53 のリン酸化が促進されていました。さらに低 Cl⁻ 刺激および LRRC8A のノックダウンいずれによっても細胞内の Cl⁻ 濃度が低下していました。つまり LRRC8A は細胞内 Cl⁻ 濃度を調整することにより p53 の発現に活性に影響している可能性が示唆されました。

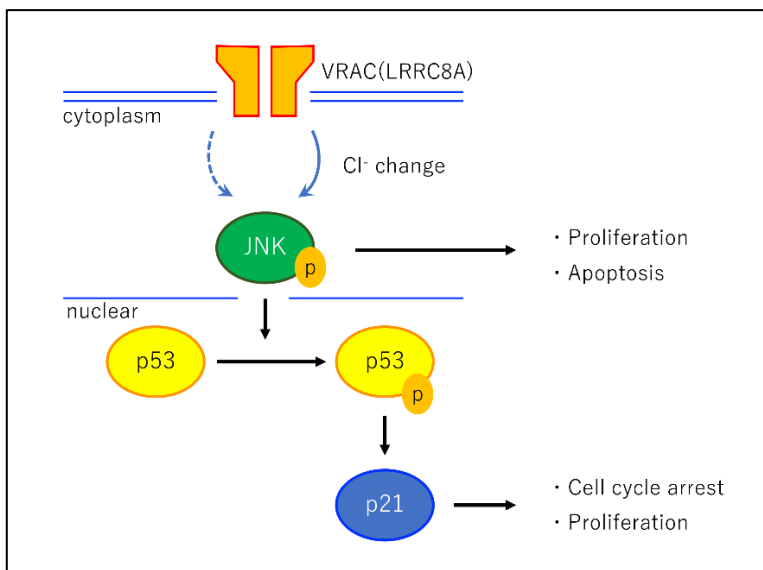


図 1 LRRC8A と p53 シグナル経路の関係。

LRRC8A の実臨床における意義を検討するため、胃癌患者さん 132 名の手術検体を用いて免疫染色による評価を行いました。組織での LRRC8A の発現の強度(Intensity)と分布比(proportion)をスコア化して症例を 2 群に分け、臨床病理学的因子との関係性を評価したところ、LRRC8A 高発現は癌の深達度と有意に相関しました。さらに予後との関係を調べたところ、LRRC8A 高発現群は有意に予後不良であり(5-year OS 65.4% vs 94.1%;p value 0.0068)(図 2)、多変量解析でも LRRC8A は独立した予後不良因子でありました(p value 0.0231)。

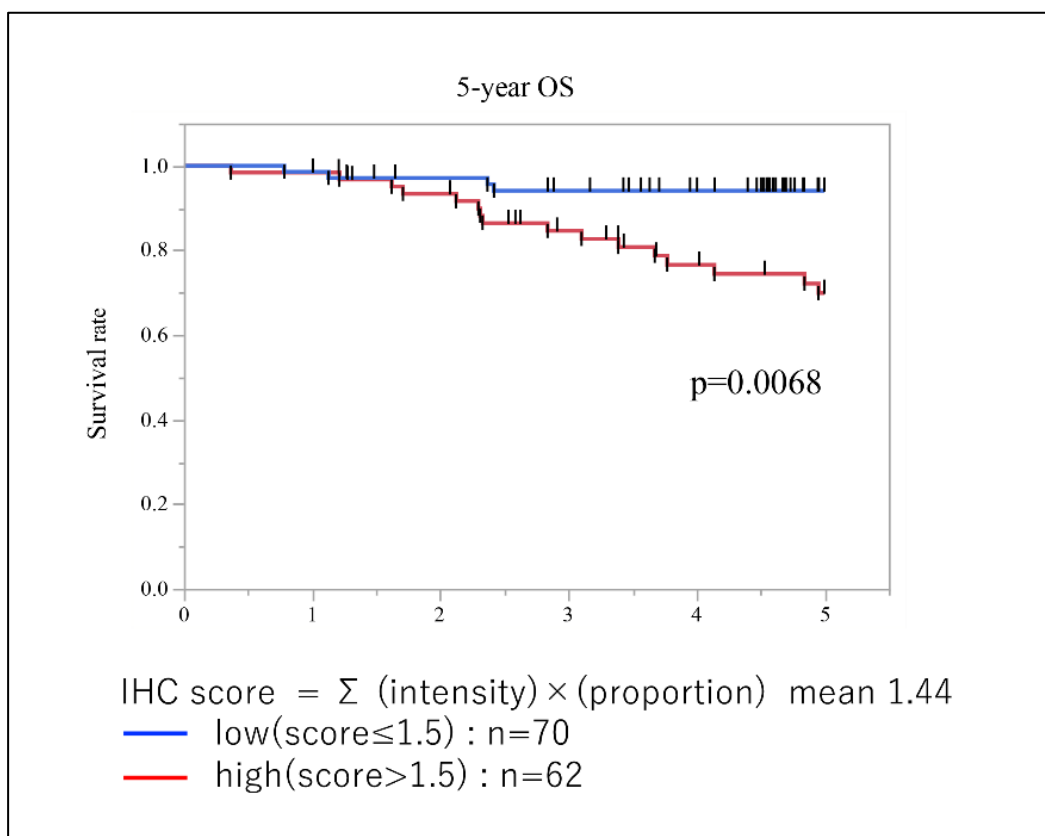


図2 LRRC8A の発現と予後との関係

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

これらの結果より、LRRC8A は胃癌細胞において JNK, p53 を介して p53 シグナル伝達経路に影響し、細胞増殖や細胞周期、アポトーシス、および細胞の遊走能や浸潤能に影響することが分かりました。また LRRC8A は Cisplatin などの抗癌剤の取り込みと関係するという報告もあり、LRRC8A の発現が予後予測マーカーとしてだけでなく、治療の選択に関わるマーカーとして臨床で利用できる可能性があります。今後 LRRC8A が高発現の胃癌患者さんに対して有用な治療法の探索、または LRRC8A を直接ターゲットとした新たな治療法の開発などが期待されます。

<p><研究に関すること></p> <p>消化器外科学 学内講師 塩崎敦</p> <p>電話：075-251-5527</p> <p>E-mail：shiozaki@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p><広報に関すること></p> <p>企画広報課 土屋</p> <p>電話：075-251-5804</p> <p>E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
---	--