

氏名	さとう しげみつ 佐藤 重光
学位の種類	博士 (保健学)
学位授与年月日	2022年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士後期3年の課程) 保健学専攻
学位論文題目	(Pro)renin receptor and insulin signaling regulate cell proliferation in MCF-7 breast cancer cells. (MCF-7 乳癌細胞の増殖制御における (プロ) レニン受容体とインスリンシグナルの寄与)
論文審査委員	主査 教授 高橋 和広 教授 三浦 昌人 教授 菅原 明

論文内容要旨

学籍番号: B9MD4002

氏名: 佐藤 重光

本文:

Background: (Pro)renin receptor [(P)RR], a receptor for prorenin and renin, is related to both the renin-angiotensin system and vacuolar H⁺-ATPase (V-ATPase) with various functions including stimulation of cell proliferation. (P)RR is implicated in the pathophysiology of diabetes mellitus and cancer. Receptors for insulin, insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R), are overexpressed in most human breast cancer, and activate the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways. Insulin is a risk factor for breast cancer in obesity and diabetes mellitus. Both insulin signaling and (P)RR have contributed to tumor cell homeostasis. However, the relationship between (P)RR expression and insulin has not been assessed.

Aim: The aim of the present study was to clarify the role of (P)RR in the insulin-mediated proliferation of breast cancer cells and an interaction between (P)RR and the AKT signaling pathway.

Methods: Effects of insulin were investigated in MCF-7, a human breast cancer cell line, by cell proliferation assay and molecular analysis. The expression of (P)RR and AKT was suppressed by gene-specific small interfering RNAs (siRNAs).

Results: Insulin stimulated cell viability, the protein expression of (P)RR, and soluble (P)RR secretion to the culture medium. In contrast to the protein expression, the (P)RR mRNA expression was not changed by insulin. Autophagy-related proteins, LC3-II and p62, were also accumulated by insulin. Suppression of (P)RR expression by siRNA significantly decreased cell number of MCF-7 in both the presence and the absence of insulin. Suppression of (P)RR expression reduced AKT phosphorylation and accumulated LC3-II protein. In turn, suppression of AKT expression by siRNA significantly decreased cell number, and expression of full-length (P)RR protein and (P)RR mRNA in MCF-7 cells, suggesting the presence of the interaction between (P)RR and AKT. Additive effect on cell viability was not observed by dual silencing of (P)RR and AKT.

Conclusion: The present study shows that insulin increases the protein levels of (P)RR, possibly via the inhibition of autophagy mediated by the AKT signaling pathway. Moreover, I have found

(書式 1 2)

an interaction between (P)RR and the AKT signaling pathway in the cell proliferation of breast cancer cells. The relationship between (P)RR and the AKT signaling pathway may be a novel target of the treatment of breast cancers.

審査結果の要旨

博士論文題目 (Pro)renin receptor and insulin signaling regulate cell proliferation in MCF-7 breast cancer cells
(MCF-7 乳癌細胞の増殖制御における(プロ)レニン受容体とインスリンシグナルの寄与)

所属専攻・分野名 保健学専攻・内分泌応用医科学分野

学籍番号 B9MD4002 氏名 佐藤 重光

(プロ)レニン受容体は、レニンおよびプロレニンの受容体であるが、レニン-アンジオテンシン系への作用のみならず、細胞増殖促進等様々な機能を有している。特に、液胞型 H⁺-ATPase と機能的複合体を形成して、オートファジーや Wnt/ β カテニン経路を制御する等、重要な生理機能を担っている。インスリンは肥満や糖尿病における乳癌のリスクファクターである。しかし乳癌細胞の増殖制御における(プロ)レニン受容体とインスリンシグナルの関係は明らかになっていない。本研究では、インスリンを介した乳癌細胞増殖における(プロ)レニン受容体の役割と、(プロ)レニン受容体とインスリンの主要シグナル経路である AKT との相互作用を明らかにすることを目的とした。ヒト乳癌培養細胞株 MCF-7 を用いて、細胞増殖アッセイ、定量的 RT-PCR およびウエスタンブロット解析により(プロ)レニン受容体とインスリンシグナルの関係を検討した。遺伝子特異的 siRNA を用いて(プロ)レニン受容体あるいは AKT の発現を抑制して、(プロ)レニン受容体と AKT の相互関係を検討した。インスリンは、細胞生存率、(プロ)レニン受容体タンパク質発現、および可溶性(プロ)レニン受容体の分泌を促進した。他方、(プロ)レニン受容体 mRNA 発現には影響しなかった。オートファジー関連タンパク質である LC3-II と p62 の蓄積はインスリンによって増加し、オートファジー抑制が示唆された。(プロ)レニン受容体発現を siRNA で抑制すると、インスリン存在下、非存在下ともに細胞数は有意に減少し、AKT のリン酸化は抑制された。他方、AKT 発現を siRNA で抑制すると、細胞数、全長型(プロ)レニン受容体タンパク質および mRNA 発現が有意に減少し、(プロ)レニン受容体と AKT の相互作用が示唆された。(プロ)レニン受容体と AKT の同時抑制による細胞生存率への相加効果は認められなかった。以上の研究から、乳癌細胞においてインスリンがオートファジー阻害を介して、(プロ)レニン受容体のタンパク質レベルを増加させること、および(プロ)レニン受容体と AKT シグナル経路に相互作用が存在することを初めて示した。(プロ)レニン受容体と AKT シグナル経路の関係が、乳癌治療の新規ターゲットとなる可能性を示唆した。よって、本論文は博士（保健学）の学位論文として合格と認める。