

【目的】大腸がんの転移巣で特異的に高発現し、がんの悪性化に重要な働きをする PRL を上皮細胞で高発現させたところ、培地 pH に対する応答性が元の細胞と比べ大きく異なっていた。培地の pH を 7.5 に固定すると増殖がほぼ停止し、通常は増殖等に大きく影響しない pH 8.0 の弱アルカリ条件では細胞が死滅していた。その一方、培地の pH を悪性化したがん組織で見られる pH 6.5 の弱酸性状態に固定すると、細胞は旺盛に増殖することが分かった。つまり、PRL の高発現は周囲環境を酸性化させると共に、自らその pH 環境に適応して増殖しやすくなっている可能性が示唆された。PRL によるがん悪性化と密接に関わっていると想定され、本研究ではこの PRL 高発現応答性の酸性環境適応の分子機構解明を目指した研究を行った。

【方法】CRISPR/Cas9 法を用いたゲノムワイドなスクリーニングを行った。レンチウイルスを用いて sgRNA のプールを PRL 高発現細胞に導入したのち、PRL 高発現細胞のみが死滅する弱アルカリ条件で培養し、生き残った細胞のプールを得た。この集団より DNA を回収し、次世代シーケンサーを用いてどの遺伝子を標的とする sgRNA 配列が濃縮されているのか明らかにし、その後検証実験を行った。

【結果】次世代シーケンサーでの解析およびノックダウンによる検証の結果、*MYH9*、*GRIK5*、*SLC39A3* の 3 遺伝子のノックダウンにより PRL 依存的な pH 応答性の変化が消失した。このうち *MYH9* をコードする non muscle myosin II A の機能としてリソソーム由来の小胞が細胞膜と融合してその内容物を放出する「lysosome exocytosis」と呼ばれる現象への関与が報告されていた。Lysosome exocytosis に伴って内腔の高濃度  $H^+$  を細胞外に排出したり、細胞膜の酸抵抗性を高めることで酸性環境への適応に寄与している可能性が考えられ、実際 PRL 高発現細胞ではリソソーム内腔に局在する酵素  $\beta$ -hexosaminidase が細胞外に盛んに分泌されていた。また *MYH9* のノックアウトによって  $\beta$ -hexosaminidase の放出と pH 応答性の変化の双方が消失しており、併せて PRL による pH 応答性の変化に non muscle myosin II A と lysosome exocytosis が重要であると判明した。

PRL 高発現による環境 pH 応答性の変化

