

がん組織内線維芽細胞の活性化における Transgelin の機能解析

学籍番号：47-186301 がん先端生命科学分野 阿久津 麻美

指導教官 石井 源一郎

[背景と目的]

大腸がんの悪性度は、がんの大きさに依存せず、表層部にある粘膜固有層から最深部にある漿膜への深達度によって規定される。つまり、大腸がんの中でも漿膜に浸潤するがんは、悪性度が高く予後不良であることが知られている。一方、当研究室の先行研究より、同じ深達度にある大腸がんであっても、漿膜直下に存在する漿膜弾性板を越えてがんが浸潤した場合には、がん組織内の線維芽細胞が増加すると同時に、他臓器への転移頻度が増加する等の悪性度の高いがんで見られる現象が起こり、予後不良になることを報告した。更に、漿膜直下の線維芽細胞を大腸がん細胞の培養上清で刺激した際に発現が上昇する分子から患者予後に強く影響する因子として、アクチン結合タンパク質の Transgelin という分子を抽出した。ヒト大腸がんにおける Transgelin の発現は間質に強く認められ、活性化線維芽細胞のマーカーである α SMA と Transgelin が共局在することも明らかにされてきた。この報告から、大腸がんにおける Transgelin の発現の主体は活性化線維芽細胞であり、Transgelin は線維芽細胞の活性化に関与している可能性が考えられた。

そこで、本研究ではがん組織内で生じる線維芽細胞の活性化における Transgelin の機能を明らかにすることを目的とした。

キーワード：線維芽細胞、活性化、Transgelin

[方法]

- ① 線維芽細胞の活性化に伴って変化することが報告されている細胞形態や α SMA の発現、基質産生能、コラーゲンゲル収縮能及び細胞遊走能の 5 項目について、線維芽細胞の活性化を評価する実験系の構築を行った。
- ② Transgelin をノックダウンした線維芽細胞を作製し、線維芽細胞の活性化に伴って変化する細胞形態、 α SMA の発現、基質産生能、コラーゲンゲル収縮能に対する Transgelin の機能について、構築した実験系を用いて検討した。

[結果・考察]

(1) 線維芽細胞の活性化を検討する実験系の構築

α SMA 及び基質関連分子 (COL1A1) の発現について、24 時間のがん細胞培養上清刺激を行った場合に線維芽細胞の活性化に伴って起きる変化が認められた (図 1)。一方で、細胞形態 (円形度) 及びコラーゲンゲル収縮能については、48 時間のがん細胞培養上清刺激を行った場合に線維芽細胞の活性化に伴って起きる変化が認められた (図 2)。遊走能については、変化が認められなかった。

以上の結果から、活性化による mRNA 及び protein レベルでの発現変化の検討を行う上では 24 時間、形態・機能変化の検討を行う上では 48 時間のがん細胞培養上清刺激を行う実験系が適当であると考えた。

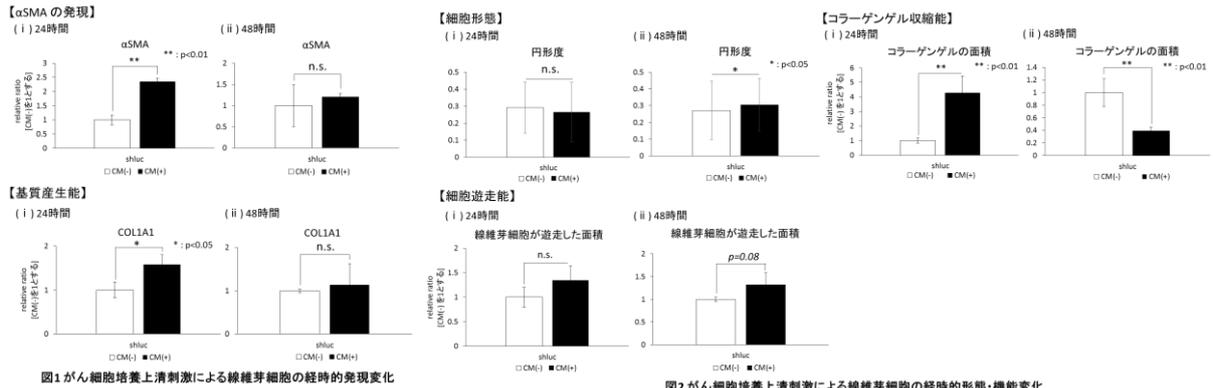


図1 がん細胞培養上清刺激による線維芽細胞の経時的発現変化

図2 がん細胞培養上清刺激による線維芽細胞の経時的形態・機能変化

(2) 細胞形態について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

がん細胞培養上清刺激による線維芽細胞の円形度の上昇は、shluc において認められたが、shTransgelin#1、shTransgelin#2 (以下 sh#1,sh#2)では認められなかった (図3)。そのため、細胞形態について Transgelin は線維芽細胞の活性化に関与することが示唆された。

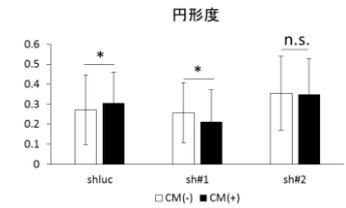


図3 細胞形態について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

(3) αSMA の発現について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

がん細胞培養上清刺激による線維芽細胞の αSMA の発現上昇は、shluc において認められたが、sh#1、sh#2 では認められなかった (図4)。そのため、αSMA の発現について、Transgelin は線維芽細胞の活性化に関与することが示唆された。

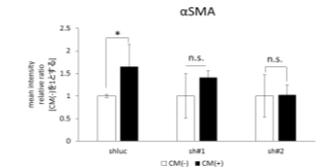


図4 αSMA の発現について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

(4) 基質産生能について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

がん細胞培養上清刺激による線維芽細胞の基質関連分子、COL1A1, TNC の発現上昇は、shluc において認められたが、sh#1、sh#2 では認められなかった (図5)。そのため、基質産生能について、Transgelin は線維芽細胞の活性化に関与することが示唆された。

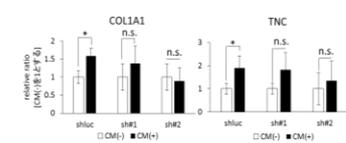


図5 基質産生能について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

(5) 収縮能について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

がん細胞培養上清刺激によるコラーゲンの面積の減少は、Transgelin の発現の有無に関わらず認められた (図6)。そのため、収縮能について、Transgelin は線維芽細胞の活性化に関与しないことが示唆された。

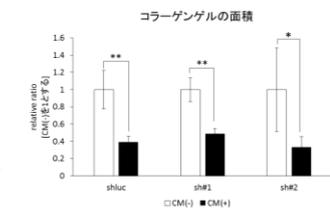


図6 コラーゲン収縮能について Transgelin が線維芽細胞の活性化に与える影響

【結論】

本研究では、Transgelin が線維芽細胞の活性化で生じる特定の現象に関与していることを明らかにした。

【発表論文】

Miyashita, T., Neri, S., Hashimoto, H., Akutsu, A., Sugano, M., Fujii, S., Ochiai, A., Ishii, G., *J Cell Physiol.* (2019) In Press