

審査の結果の要旨

熊谷 友紀

本研究では、がんの血行性多段階転移のメカニズムを明らかにするため、マウス実験的肺転移系により作成した高転移性細胞株を用いて遺伝子発現解析を行い、下記の結果を得ている。

1. マウス肺腺がん細胞株 **IMSMP1** をヌードマウスの尾静脈に注射し、肺に形成された転移巣から細胞株を作成する過程を 8 回繰り返し、独立な 2 系列の細胞株を作成した。4 回転移株 (4PA、4PB) および 8 回転移株 (8PA、8PB) の実験的肺転移能は、親株と比較して亢進していることが示された。
2. 4PA、4PB、8PA、8PB および **IMSMP1** を用い、軟寒天コロニー形成アッセイを行ったところ、親株と比較して繰り返し転移株で形成されるコロニー数が多いことが示された。
3. これらの細胞株から抽出した mRNA を用い、マイクロアレイ解析を行った。転移と発現が正に相関する遺伝子の探索のため、絞り込みを行ったところ、228 遺伝子を得られた。その中には、既に転移促進因子として機能が知られている遺伝子 (*Cldn2*、*Tnf*) に加え、幹細胞マーカー (*Nes*、*Cd44*、*Cd133*) や細胞分裂を進行する遺伝子 (*Ccna2*、*Ccnb1*、*Cdc6*、*Ccnb2*) が含まれていた。
4. さらに、選出した遺伝子について、RT-PCR により発現解析を行ったところ、親株と比較して繰り返し転移株において有意に発現の高い 2 遺伝子 (*Podnl1*、*Chrna1*) が新規転移促進候補遺伝子として選出された。さらに、**PODNL1-HA** を過剰発現した **IMSMP1** 細胞は、コントロール細胞と比較して有意に実験的肺転移能が高いことが示された。
5. 転移と発現が負に相関する遺伝子の探索のため、絞り込みを行ったところ、311 遺伝子を得られた。さらに、選出した遺伝子について、RT-PCR により発現解析を行ったところ、親株と比較して繰り返し転移株において有意に発現の低い 4 遺伝子 (*Vldlr*、*Stc2*、*Chchd10*、*Pvrl3*) が転移抑制候補遺伝子

として選出された。さらに、STC2-HA を過剰発現した 4PB 細胞は、コントロール細胞と比較して実験的肺転移能および軟寒天コロニー形成能が低いことが示された。

6. STC2-HA を過剰発現した 4PB 細胞は、コントロール細胞と比較してヌードマウスの皮下移植による腫瘍形成能が低いことが示された。

以上、本論文はマウス実験的肺転移系により作成した高転移性細胞株を用い、親株との遺伝子発現パターンの比較により、転移促進候補遺伝子として *Podn11*、転移抑制候補遺伝子として *Stc2* を同定した。本研究は未だ解明されないがんの転移メカニズム解明に重要な貢献をなすことが期待され、学位の授与に値するものと考えられる。