

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	豊 田 尚 潔
主 論 文 題 名				
Profilin 2 isoform expression is associated with lung metastasis of colorectal cancer according to a comprehensive gene expression study using a mouse model (マウスモデルを用いた包括的な遺伝子発現研究により、プロフィリン2アイソフォームの発現が大腸癌の肺転移と関連していることが明らかになった。)				
(内 容 の 要 旨)				
大腸癌において肺転移は肝転移について2番目に多い転移の形態であるが、肝転移に比べてメカニズムに関する研究はあまり進んでいない。本研究では肺転移に関わる分子の同定を行うことを目的とした。方法としてはマウスにCMT93（マウス大腸癌細胞）を尾静注することでマウスの大腸癌肺転移モデルを作成した。そのマウスの肺転移巣より転移細胞を抽出してprimary cultureを行うことにより肺転移細胞株（CMT93-PM）を4系統（CMT93PM1,2,3,4）を樹立した。まずCMT93-PMはCMT93に対して有意に肺転移を生じやすいことをマウス尾静注モデルを使って確認した。次にCMT93とCMT93-PM1をマイクロアレイにかけることで、2種類の細胞の遺伝子発現の違いを調べた。マイクロアレイにより得られた結果が、他の3系統の細胞（CMT93-PM2,3,4）でも確認できるかどうかをreal time PCR法を用いて確認した。またマイクロアレイで得られた結果に対してクラスター解析、Gene Ontology解析を行うことで、どのような機能に関連している遺伝子が過剰発現、または発現抑制されているのかを調べた。結果としてCMT93-PMはCMT93に対して高い肺への転移能を有することが確認された。またマイクロアレイを用いてCMT93とCMT93-PM1の間で10倍以上の発現変化を認める遺伝子を88種類認めた。クラスター解析を行うことで過剰発現2クラスター、発現抑制2クラスターの計4クラスターに分けることができた。リン酸化の制御や細胞接着、細胞増殖、細胞移動などに関連した遺伝子の過剰発現を認め、MAP/ERK pathwayの制御、細胞内代謝の制御、アポトーシスの制御などに関連した遺伝子の発現抑制を認めた。我々はその中でも最も発現が上昇していたPFN2という遺伝子に注目した。PFN2はアクチン結合タンパクであり、アクチン重合を調節している分子である。PFN2は他の3つのcell lineでもCMT93-PMに対してreal time PCRを用いて上昇が確認された。PCR産物のmelting curve analysisからはCMT93とCMT93-PMともにsaddleback型の形状を示したが、それぞれのピークが若干ずれることからPFN2のisoformの発現量がCMT93とCMT93-PMで違うことが示唆された。PCR産物がPFN2a, 2bであることを電気泳動とsanger sequenceで確認した。PFN2a, 2bという既知のアイソフォームに対してreal time PCRを行ったところ、PFN2a, PFN2bともに発現の上昇を認めた。PFN2aの上昇の方が、PFN2bの上昇に比較してより顕著であった。本実験より、肺転移の形成に関してPFN2の過剰発現が関連している可能性が示唆された。				