



Title	Suppression of tumorigenicity, but not anchorage independence, of human cancer cells by new candidate tumor suppressor gene CapG
Author(s)	渡利, 彰浩
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47547
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	わた 渡 利 彰 ひろ 浩
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 9 2 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Suppression of tumorigenicity, but not anchorage independence, of human cancer cells by new candidate tumor suppressor gene CapG (新規がん抑制遺伝子候補 CapG は造腫瘍性を抑制するが、足場非依存性は抑制しない)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 田 雅 人 (副査) 教 授 高 倉 伸 幸 教 授 目 加 田 英 輔

論 文 内 容 の 要 旨

(目的)

発がんは複数の遺伝子の突然変異が蓄積されることにより段階的に進行していくものと考えられている。我々の研究室ではこの段階的発がん機構のメカニズムを明らかにするため、1種類の正常なヒト線維芽細胞から様々な段階にまで悪性化した細胞株シリーズ(RB細胞株シリーズ)を分離し、1種類の細胞が段階的に悪性化する過程をモニターできる系を樹立した。RB細胞株シリーズとは、13番染色体の一つに大きな欠失(q14からq22の領域)を持った家族性網膜芽細胞腫患者の正常な皮膚のヒト線維芽細胞(RB)から、この細胞にSV40 large Tを導入して延命した細胞(RBSV)、その細胞を継代してできた不死化細胞(RBI)、不死化した細胞を長い間継代することによって分離した足場非依存的に増殖できる細胞(RBS)、ヌードマウスの皮下に腫瘍を作ることができる造腫瘍性細胞(RBT)といった一連の悪性化段階を網羅した細胞株シリーズである。本研究ではこのRB細胞株シリーズを用いて、各段階の遺伝子発現変化を調べ、その変化ががんの悪性化においてどのように関係するかを明らかにすることを目的としている。

(方法ならびに成績)

RB細胞株シリーズの様々ながん化段階において発現が変化するタンパクを検索していたところ、足場非依存性細胞がさらに造腫瘍性を獲得する段階で45 kDaの未知のタンパクが消失することを見つけた。そこで、この未知のタンパクを同定するため質量分析を行ったところ、その未知のタンパクはCapGであることが分かった。CapGに対する特異性の高い抗体を作成し、RB細胞株シリーズでの発現変化を調べたところ、造腫瘍性獲得の段階で発現が消失することを確認した。次にCapGタンパクの発現消失の原因を調べるためノザンブロットングを行ったところ、造腫瘍性を獲得する段階でCapGの遺伝子発現が消失していることが分かった。また、CapG遺伝子のゲノム領域をサザンブロットング法により調べたところ、DNAレベルでの変異は起こっていないことが確認された。以上の結果より、RB細胞株シリーズでのCapG遺伝子は、造腫瘍性を獲得する段階で、転写レベルでその発現が抑えられていることが明らかになった。

次に *CapG* 遺伝子が RB 細胞株シリーズの造腫瘍性の獲得に関係しているかどうかを調べるために、造腫瘍性のある RBT 細胞に *CapG* 発現ベクターを導入した。*CapG* の発現はこれらの細胞の増殖能や足場非依存性（軟寒天中での増殖能）には影響を与えなかったが、免疫不全マウスでの造腫瘍性は抑制した。

CapG 遺伝子の発現消失が実際のヒトのがんでも起こっているかどうかを調べるため、ヒトがん細胞株での *CapG* タンパクの発現をウエスタンブロッティングにより検討したところ、胃がん、メラノーマ、肺がん細胞株で発現消失が確認された。さらにヒト肺がん組織においても発現消失が確認された。そこで、*CapG* 遺伝子が実際のヒトがん細胞の造腫瘍性を抑制するかどうかを調べるため、*CapG* の発現が消失しているヒト胃がん細胞株である AZ521 に *CapG* 発現ベクターを導入し造腫瘍性を確認したところ、実際のヒトがん細胞においても造腫瘍性の抑制能が見られた。また、この胃がん細胞株においても増殖能や足場非依存性は *CapG* によって影響を受けなかった。

CapG はアクチン重合の調節に関わることが報告されているので、RBT 細胞に *CapG* 遺伝子を導入してアクチン線維の形態を調べたが、線維形成には影響を与えないことが分かった。また、*CapG* は細胞の移動能を高める活性も報告されている。実際、*CapG* 遺伝子を導入した RBT 細胞は、造腫瘍性を失っているにもかかわらず移動能は上昇していた。このことから、*CapG* の造腫瘍性抑制能と移動能を高める機能とは異なった機構により調節されている可能性が示唆された。

（総括）

本研究により *CapG* 遺伝子は様々ながん細胞の造腫瘍性を抑制し、実際のがん細胞株、がん組織において発現消失が認められることから、がん抑制遺伝子の候補であることが明らかになった。また、段階的発がん機構のモデルである RB 細胞株シリーズが、がん関連遺伝子のスクリーニングにおいて有効であることも示した。

論文審査の結果の要旨

本論文において、著者は独自に作製した多段階発がんモデルである細胞株シリーズを用い、その細胞株間での遺伝子変化の検索から、造腫瘍性を獲得した細胞で *CapG* 遺伝子の発現が消失していることを見つけた。そして、この *CapG* 遺伝子を造腫瘍性細胞に導入すると、その細胞の造腫瘍性を抑制することを明らかにした。次に、*CapG* 遺伝子が実際のヒトがん発症に関わっているかどうか調べるため、各種ヒトがん細胞株において *CapG* タンパクの発現を調べたところ、胃がん細胞株、メラノーマ、肺がん細胞株で高率に発現低下が起きていることを見つけた。また、実際の肺小細胞がんの患者から得たがん組織においても、*CapG* 遺伝子の発現が高率に消失していることを見つけた。さらに、*CapG* 遺伝子は *CapG* タンパクの発現が消失していた実際のヒト胃がん細胞株である AZ521 の造腫瘍能も抑制した。これらの結果は、*CapG* 遺伝子が新規のがん抑制遺伝子候補であることを示しており、学位の授与に値すると思われる。