

## 【課程一 2】

### 審査の結果の要旨

川崎 範隆

本研究は、新規がん転移抑制遺伝子の探索に関する研究を行い、下記の結果を得ている。

1. 低転移性ヒト肺腺がん由来 PC-8 細胞株に、RNAi ライブラリーを導入した。その細胞株をヌードマウスの尾静脈より移植し、*in vivo* スクリーニングを行った。その結果、がん転移抑制遺伝子候補となる 23 遺伝子を同定した。
2. PC-8 細胞株を用いて 23 遺伝子中 15 遺伝子それぞれに対する発現抑制細胞株を作製した。それらの運動能評価を行ったところ、NDUFV3、THPO、PALM2 遺伝子に対する発現抑制細胞株が顕著な運動能の亢進を示した。さらに、3 遺伝子の発現抑制細胞株を用いて、スクラッチアッセイを行ったところ、スクラッチアッセイにおいても運動能の亢進が認められた。これらのことより、NDUFV3、THPO、PALM2 遺伝子が、細胞運動を抑制的に制御することを明らかとした。また、その運動能制御は、ヒト乳がん由来 MDA-MD-231 細胞株においても同様に示された。
3. MDA-MB-231 細胞株を用いて、運動能を制御する遺伝子である NDUFV3 の遺伝子産物が、ミトコンドリアに局在することをウェスタンブロット法により明らかとした。
4. MDA-MB-231 細胞株を用いて、NDUFV3 を発現抑制した際の、細胞内 ATP 濃度の測定や、エネルギー代謝シフトといったエネルギー産生系に与える影響を検討した。その結果、NDUFV3 はエネルギー産生系に影響を与えずに、運動能を制御していることが示された。
5. NDUFV3 を発現抑制した際に、ミトコンドリア呼吸鎖複合体活性を測定したところ、複合体Ⅲ活性を低下させること、複合体Ⅳ活性を上昇させることが明らかとなった。
6. 抗酸化剤を用いて、活性酸素種が運動能に与える影響を検討した。NDUFV3 発現抑制細胞株を抗酸化剤処理すると、亢進された運動能の低下が認められた。さらに、NDUFV3 発現抑制細胞株の細胞内活性酸素種の測定を行ったところ、活性酸素種の発生は亢進していたものの、顕著な運動能の亢進を説明できるものではなかった。したがって、NDUFV3 は活性酸素種の発生に影響を与えるというよりも、活性酸素種シグナルを抑制し、運動能を抑制的に制御していることが示唆された。

以上より、本論文は、新規がん転移抑制遺伝子の候補を 23 遺伝子同定したことを報告し、候補遺伝子の 1 つである NDUFV3 が、細胞運動能を抑制的に制御することを示した。本研究で見出した新規がん転移抑制遺伝子群の情報により、がん転移分子機構の理解が深められると考えられることから、学位の授与に値するものと考えられる。