

がん細胞の浸潤、転移における新規遺伝子 *fad104* の 役割と機能の解析

名古屋市立大学大学院薬学研究科

分子生物薬学分野 講師 西塚 誠

がんは日本人の死亡原因の第一位であるばかりでなく、全世界的に見てもがんによる死亡率は増加傾向を示している。このことから、疾病対策上の最重要課題としてがん制圧のための研究が活発になされている。これまでの精力的な研究に加え、早期診断ならびに治療法の進歩によって、がんが原発巣に限局する時の治癒率は高くなってきた。その一方で、がん細胞が他の臓器へ転移してしまうことにより、その治癒率は大幅に低下する。そのため、がんを制圧するためには、がん細胞の転移を如何に抑制するか、が非常に重要な課題となっている。がん細胞の浸潤、転移には細胞の接着や移動を制御する遺伝子が多数関与していることが報告されているが、その詳細な分子メカニズムについては未だ不明な点が多く残されている。

申請者らは、脂肪細胞分化の制御メカニズムを明らかにすることを目的として、脂肪細胞分化初期に発現が増加する遺伝子を多数単離し、解析してきた。その中の一つが新規遺伝子 *fad104* である。これまでの検討により、*fad104* が脂肪細胞分化を正に制御すること、さらに、*fad104* が肺形成、骨分化にも重要な役割を担うことを明らかにした。また、*fad104* が細胞の接着や移動にも大きく寄与することを見出した。

細胞の接着、移動の制御は、がん細胞の浸潤、転移に極めて重要である。そこで、*fad104* ががん細胞の浸潤能の獲得に関与するか否か検討を行った。その結果、*fad104* を過剰発現したメラノーマ細胞では、浸潤能が減弱し、細胞の浸潤に重要な役割を担う *MMP2* の発現も顕著に減少することを見出した。これらの検討は、脂肪細胞分化を制御する新規遺伝子として単離された *fad104* が、がん細胞の浸潤、転移を制御する新しい遺伝子であることを強く示唆するが、その分子機構については未だ不明である。そこで本研究では、がん細胞の浸潤、転移に寄与することが初めて明らかになった新規遺伝子 *fad104* のがん細胞転移における役割とその機能を解明することをめざした。

まず、*fad104* ががん細胞の転移能に影響を与えるか否か検討した。マウスメラノ

ーマ B16F10 細胞に fad104 を導入し、fad104 安定発現 B16F10 細胞を複数樹立した。作製した細胞株を C57BL/6 マウスの尾静脈に投与し、2 週間後に肺に転移した細胞を評価した。その結果、空ベクターを導入し作製したコントロール細胞では、肺一面に転移が観察された一方で、fad104 安定発現細胞株では、転移した細胞が顕著に減少していた。これらの結果より、fad104 はメラノーマ細胞の移動、浸潤能を抑制するだけでなく、転移能も阻害することが明らかになった。

我々は、fad104 が BMP/Smad シグナルを抑制し、骨分化を阻害することをこれまでに報告している。また、BMP2 は骨分化にとどまらず、がんの浸潤、転移にも重要な役割を担っていることが知られている。そこで次に、メラノーマ細胞においても fad104 が BMP/Smad シグナルを制御するか否か検討した。アデノウイルスにより A375 細胞に fad104 を過剰発現させ、BMP2 刺激後の Smad1/5/8 のリン酸化レベルを評価したが、リン酸化レベルはコントロール細胞と同程度であった。この結果より、fad104 は A375 細胞において BMP/Smad シグナルの制御に寄与しない可能性が示唆された。

メラノーマ細胞の浸潤、転移には、BMP/Smad シグナルだけでなく、STAT3 や Akt のリン酸化を介したシグナル伝達機構が重要な役割を担う。そこで、fad104 が STAT3、Akt を介するシグナル伝達機構に影響を与えるか否か検討した。空ベクターを導入した A375 細胞（コントロール細胞）に血清刺激を行った結果、STAT3 および Akt のリン酸化レベルの上昇が観察された。その一方、fad104 を過剰発現させた A375 細胞では、STAT3、Akt のリン酸化レベルの上昇が顕著に抑制された。逆に、siRNA を用いて fad104 の発現を抑制すると、血清刺激による STAT3、Akt のリン酸化レベルが上昇することが明らかになった。これらの検討結果より、fad104 はメラノーマ細胞において STAT3 および Akt のリン酸化レベルを制御する新規タンパク質であることが強く示唆された。

FAD104 は、N 末端にタンパク質相互作用に重要な役割を担う PxxP モチーフを有している。そこで、fad104 の N 末端が STAT3 と相互作用するか否か検討した。GST 融合 FAD104 (1-277aa) と A375 細胞のライセートを用いた GST-pull down assay の結果、FAD104 の N 末端と STAT3 が相互作用することが示された。この結果より、FAD104 は、STAT3 との相互作用を介して、そのリン酸化レベルの制御を担っている可能性が示された。

本研究により、脂肪細胞分化初期過程に発現が増加する新規遺伝子として単離された fad104 が、メラノーマ細胞の浸潤、転移にも寄与すること、さらに、その機

能メカニズムとしてメラノーマ細胞の浸潤、転移に重要な役割を担う STAT3、Akt のリン酸化レベルを制御していることが明らかになった。本研究結果とこれまでの検討結果から、fad104 は脂肪細胞、骨細胞、肺形成、そしてがん細胞の浸潤、転移と極めて多くの生命現象に重大な役割を担う因子であることが示された。今後、FAD104 による STAT3 および Akt のリン酸化制御機構の詳細な解析を行うことにより、FAD104 に着目したがん細胞の浸潤、転移に対する新たな治療薬の創出につながることを期待される。