

平成 21 年度 がん特定領域研究 若手共同研究報告書

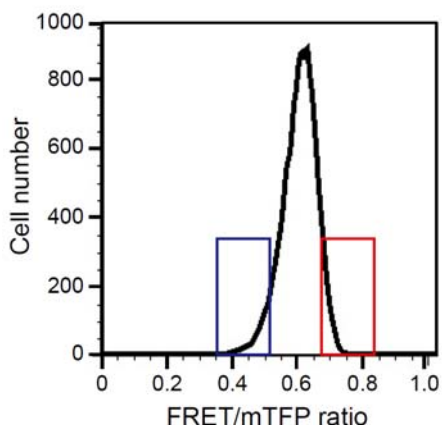
研究課題名：グリオーマ浸潤先導部形成細胞におけるシグナルネットワークの解析

若手研究代表者（申請者）： 平田 英周
所属研究機関： 京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学
共同研究者 1： 田中 慎吾
所属研究機関： 金沢大学がん研究所 がん幹細胞センター
遺伝子・染色体構築研究分野
共同研究者 2： 幸長 弘子
所属研究機関： 京都大学大学院医学研究科 病態生物医学

研究の背景と概要

申請者らは 2 光子励起蛍光顕微鏡、及び新規 FRET biosensor を用いた *in vivo* imaging により脳内におけるグリオーマ細胞浸潤形態を明らかにし、さらに浸潤先導部形成細胞が後方の細胞群や血管に沿った浸潤を行う細胞群と比較して高い Rac1/Cdc42 活性を呈することを見出した。一方、共同研究者らはマウスグリオーマモデルを用いてグリオーマ浸潤先導部形成細胞群に腫瘍幹細胞の性質を有するものが多く含まれていることを見出した。今回両研究室における共同研究により、これらグリオーマ浸潤先導部形成細胞における細胞内シグナルネットワークの解析を行い、グリオーマ浸潤機構の解明及びグリオーマ幹細胞の同定・解析に向けた新たな知見を得ることができた。

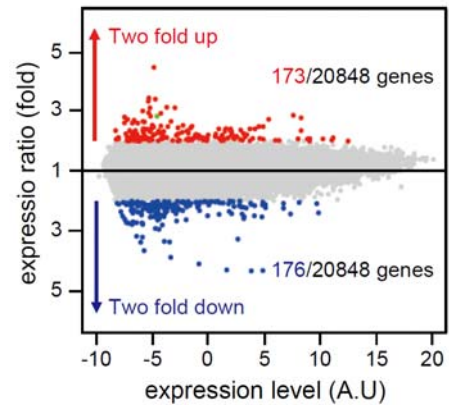
研究結果と今後の展望



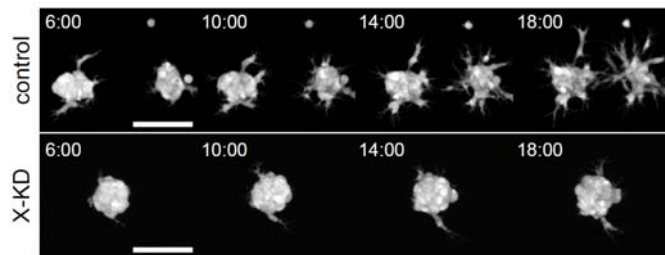
【図 1】 FACS による Rac1-high/-low fraction の分取

グリオーマ細胞は浸潤過程においてその形態を自在に変化させ、腫瘍微小環境に順応することにより高度な組織内浸潤・腫瘍塊増大を可能にしている。遺伝的背景を同一とするグリオーマ細胞群が *in vitro* での均一な環境においてもランダムな Rac1 活性のゆらぎを示すことから、グリオーマ細胞が微小環境順応性に形態を変化させる背景に、短時間で多様性を生み出すことのできる stochastic な遺伝子発現が存在している可能性に注目した。Raichu-Rac1 FRET

biosensor を安定的に発現するグリオーマ細胞を回収し、FACSにより Rac1-high/Rac1-low fraction を分取した【図 1】。これら細胞分画よりそれぞれ mRNA を抽出し、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。結果、Rac1-high fraction において有意に発現上昇あるいは低下を認める計 349 遺伝子を同定した【図 2】。これらの中からグリオーマ浸潤形態を規定する protein-x を同定し、x がグリオーマ浸潤に重要な役割を担っていることを見出した【図 3】。現在、シグナルネットワークレベルでの評価、及び神経幹細胞・腫瘍幹細胞維持に重要な役割を担っていると考えられている遺伝子群に着目し、更なる解析を進めているところである。



【図 2】 microarray による遺伝子発現解析



【図 3】 protein-x ノックダウンによるグリオーマ浸潤遅延