

# 大腸がんの転移予測マーカーとしての RNAスプライシング因子HNRPLLの有効性の検証

愛知県がんセンター研究所 分子病態学部 主任研究員 佐久間 圭一郎

## はじめに

高齢化社会に伴い日本人の大腸がん罹患数は年々増え続け、死亡者数はこの20年で2倍以上に増加した。その死因の約9割は転移によるといわれている。しかし、転移の機序はまだ十分解明されておらず、有効な転移予防法・治療法は存在しない。

転移制御因子は概念的に転移を正に制御する転移促進因子と負に制御する転移抑制因子に分けられる。前者については数多く報告されている一方で、後者の研究は非常に遅れている。そこで我々は、大腸がん転移モデルマウスとshRNAライブラリーを用いた転移抑制遺伝子の生体内スクリーニング系を構築し、新規大腸がん転移抑制遺伝子として*Hnrnp11* (*heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L-like*) を同定した。マウスの低転移性大腸がん細胞株CMT93の*Hnrnp11*をshRNAでノックダウンするとマトリゲル浸潤能が亢進し、*Hnrnp11* cDNAの強制発現でこの亢進は抑制された。*Hnrnp11*のヒトオルソログであるHNRNPLLをノックダウンしたヒト大腸がん細胞株SW480とHT29でも同様の現象を認めたことから、ヒトHNRNPLLもマウス*Hnrnp11*同様に大腸がん細胞の浸潤過程を抑制するものと考えられた。

以上の背景からHNRNPLLが転移予測マーカーとして有効である可能性が考えられ、本研究課題では、臨床検体を用いて検証をおこなった。

## 結 果

### 1. 大腸がん原発巣と転移巣のHNRNPLL 発現量の比較

愛知県がんセンター中央病院で大腸がんの原発巣および転移巣の切除手術を受けた3症例の組織切片を入手し、HNRNPLLの免疫蛍光組織染色をおこなった。上皮細胞を同定するためcytokeratin 18 (CK18) を共染色した(図1)。染色した切片を共焦点顕微鏡で撮影し、ImageJを用いて上皮細胞のHNRNPLLのシグナル強度を定量した(図2)。

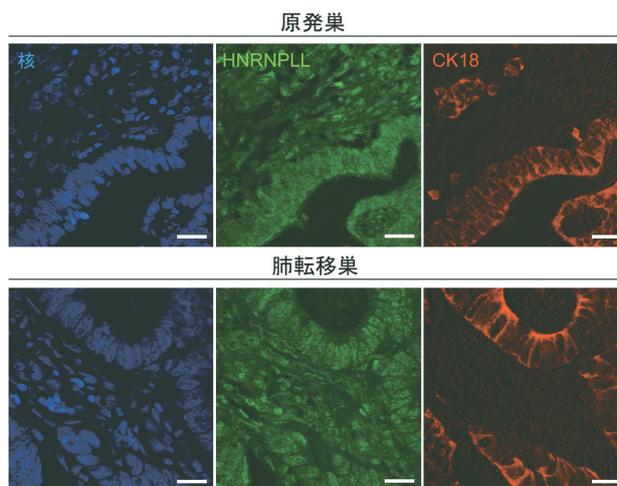


図1. 同一患者由来の原発巣と肺転移巣の染色例。  
緑はHNRNPLL、赤はCK18、青は核を示す。

得られた数値を原発巣と転移巣の間でpaired t-testで検定したところ、有意差を認めなかった(図3)。

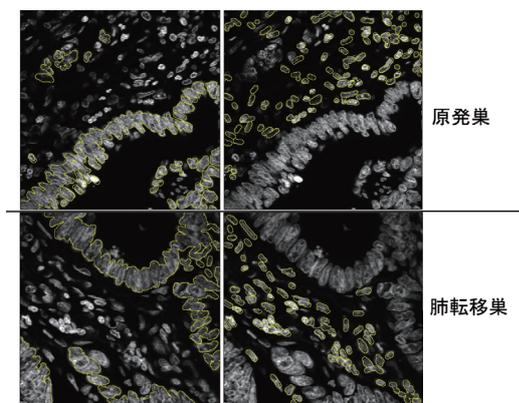


図2. HNRNPLLのシグナル強度を定量するため、Image Jによる処理を施した画像。

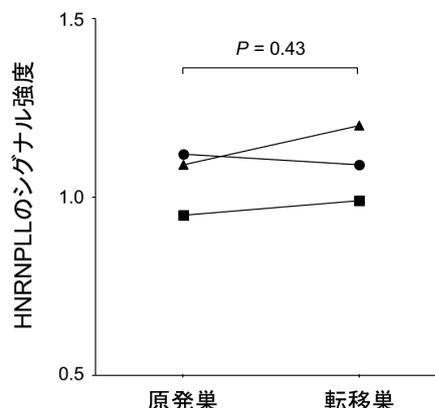


図3. 原発巣と転移巣のがん細胞のHNRNPLLシグナル強度を統計学的に比較した。縦軸はCK18陰性の非上皮細胞のHNRNPLLシグナル強度で標準化した数値を示す。

## 2. 上皮間葉転換に伴うHNRNPLLの発現低下機序の解明

1の結果から、転移能を有する大腸がん細胞の全てが恒常的にHNRNPLLの発現低下をきたしているのではなく、一部のがん細胞のみ、あるいは一過性にのみ、HNRNPLLの発現が低下する可能性が示唆された。我々は既に大腸がん組織切片の浸潤先端部位にHNRNPLLの発現が低下した細胞が散見される症例が存在すること、同細胞はE-cadherinの発現が低下した、いわゆる上皮間葉転換(EMT)の性質を呈することを見出している。現在、*in vitro*で大腸がん細胞にEMTを誘導する実験系を用いて、EMTに伴うHNRNPLLの発現低下機序の解明を試みている。

## 考 察

臨床検体を用いたHNRNPLLと転移の相関解析は今後さらに症例数を蓄積したい。同時に、HNRNPLLとEMTの関係についてより詳細を明らかにし、HNRNPLLの治療標的としての可能性についても検討をおこないたい。

## 要 約

肺転移を有する進行大腸がん症例の原発巣と転移巣のHNRNPLL発現量を免疫組織染色にて定量比較した結果、現時点で症例数は少ないながらも、両者に有意差を認めなかった。一方で、浸潤先端の一部にHNRNPLLの発現が低下したEMT様のがん細胞を認める症例が存在することから、HNRNPLLは浸潤過程において一過性に発現が低下するのかもしれない。そうであ

ればHNRNPLLを転移予測マーカーとして用いることは困難かもしれないが、治療標的としての有効性は検討の余地があり、今後、その点についても併せて検討を進めていきたい。

## 学会発表

1. 佐久間圭一郎、青木正博: Identification of the genes spliced by a novel colon cancer metastasis suppressor HNRNPLL. 第75回日本癌学会学術総会, 10月7日, 2016, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市).
2. Masahiro Aoki, Keiichiro Sakuma: Identification of HNRNPLL as a novel metastasis suppressor of colorectal cancer. The Naito Conference, July 6, 2016, シャトレーゼ ガトーキングダム サッポロ (北海道・札幌市).
3. Masahiro Aoki, Keiichiro Sakuma: An in vivo shRNA screen identifies HNRNPLL as a novel colorectal cancer metastasis suppressor. Tenth AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research, February 19, 2016, Lahaina, USA.
4. 佐久間圭一郎、青木正博: Epithelial mesenchymal transition negatively regulates HNRPLL, a candidate metastasis suppressor of colon cancer. 第74回日本癌学会学術総会, 10月10日, 2015, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市).

## 文 献

本研究成果は現在、学術誌に論文投稿中である。