

論 文 要 旨

Formin-like 1 (FMNL1) Is Associated with Glioblastoma Multiforme Mesenchymal Subtype and Independently Predicts Poor Prognosis

Formin-like 1 (FMNL1)は膠芽腫の mesenchymal subtype に関連し、
独立した予後不良因子である

比嘉 那優大

【序論及び目的】

Glioblastoma (GBM)は、悪性脳腫瘍の中で最も頻度が高く、WHO gradeIVに分類される。手術による腫瘍摘出、放射線化学療法などの集学的治療を行っても生存期間中央値は10-11ヶ月と予後不良の腫瘍である。GBMの悪性度に寄与している因子として、高い増殖能、遊走・浸潤能がある。遊走・浸潤能はアクチンを介して細胞骨格を変化させることで制御されており、アクチンの制御機構としてアクチン重合・脱重合は重要である。そこで我々はアクチン重合因子であるFMNL1に着目し、GBMでのFMNL1の機能解析を行った。

【材料及び方法】

鹿児島大学脳神経外科で摘出手術及び治療が行われた217例のGBM患者の病理検体を用いて、FMNL1の免疫染色を行いその発現と臨床病理的因子と予後との関連の検討を行った。また、The Cancer Genome Atlas (TCGA)の発現データベースを用いて予後解析やGene set enrichment analysis (GSEA)を行った。さらにFMNL1の発現が比較的高いU251MGとDBTRG-05MGの2つのGBM細胞株にFMNL1に対するsiRNAを処理し、遊走・浸潤能、Matrix metalloproteinases (MMP)活性、重合アクチン(Fアクチン)の染色とウエスタンブロットによるFアクチン/Gアクチンの量的比較、形態学的変化の検討を行った。また、FMNL1の発現が比較的低いU87MGとKNS81の2つのGBM細胞株にFMNL1を過剰発現させ、遊走・浸潤能の検討を行った。さらにU251MGとDBTRG-05MG についてFMNL1の下流分子として報告のあるDIAPH1とGOLGA2について、siRNAを用いてノックダウンし同様の解析を行った。

【結 果】

217例の自験例とTCGAのデータでは、共にFMNL1の高発現群は予後不良であった。FMNL1の発現と臨床病理的因子との比較検討では、FMNL1高発現群では低発現群よりも高齢であり、KPSが低く、腫瘍摘出度が低い傾向にあった。また多変量解析を行ったところ、FMNL1は独立した予後不良因子であった。GSEAではFMNL1は浸潤や遊走、アクチン重合に関連していた。FMNL1をノックダウンするとGBMの遊走・浸潤能が抑制され、アクチン重合の減少が観察され形態学的変化を伴っていた。この時、他のアクチン重合因子であるDIAPH1とゴルジ体の安定化に参与するGOLGA2の発現が低下していた。さらにFMNL1をノックダウンすることによる浸潤能抑制効果は、MMP9活性の低下と相関していた。FMNL1

を過剰発現させると浸潤能は変化を認めなかったが、遊走能の亢進を認めた。この時、DIAPH1 の発現は亢進したが、GOLGA2 の発現は変化を認めなかった。また、DIAPH1 および GOLGA2 に対する siRNA を用いた検討の結果、DIAPH1 のノックダウンでは遊走能のみが抑制されアクチン重合が減少するが、GOLGA2 のノックダウンでは、主に浸潤能が抑制されアクチン重合の減少は起きないことが分かった。以上より FMNL1 は DIAPH1 を介して遊走能を、GOLGA2 を介して浸潤能を制御していると考えられた。また GSEA では、FMNL1 高発現群は GBM の subtype の一つである mesenchymal subtype に関連していた。FMNL1 過剰発現細胞株では、mesenchymal subtype のマーカーである CHI3L1, CD44, VIM, RELB, TRADD, PDPN の mRNA の上昇を認めた。

【結論及び考察】

FMNL1 は正常組織では扁桃、脾臓やリンパ球に発現しており、白血病や鼻咽頭癌の侵襲性に関連するとの報告があるが、これまで GBM での報告はなく、GBM における FMNL1 の機能は不明であった。FMNL1 は正常脳組織では発現していなかったが、GBM では発現を認めた。FMNL1 高発現群では予後不良であった。我々の実験結果からは、FMNL1 の発現上昇は遊走・浸潤能の亢進をもたらした。また、DIAPH1 と GOLGA2 を FMNL1 の下流分子と考えて矛盾のない結果であった。DIAPH1 は細胞分裂や接着、遊走に関与することが知られており、悪性腫瘍では乳癌や大腸癌、GBM で遊走能や浸潤能に関与することが、また GOLGA2 は胃癌、肺癌の浸潤能に関与することが報告されており、我々の結果と一致していた。以上の結果より、FMNL1 は DIAPH1 を介して遊走能を制御し、GOLGA2 を介して浸潤能を制御していることを見出した。また FMNL1 はアクチン重合を制御しており、FMNL1 をノックダウンすると F アクチンが減少し細胞の形態学的変化をもたらすことを確認した。しかし、HeLa 細胞や Jurkat 細胞では FMNL1 をノックダウンすると F アクチンが増加することが報告されており、細胞や組織によって異なる機能を持つことが示唆された。遺伝子発現解析により GBM は proneural, classical, neural, mesenchymal の 4 つの subtype に分類できることが知られており、その内 mesenchymal subtype は腫瘍の侵襲性、治療抵抗性、予後不良に関連することが報告されている。我々のデータから、FMNL1 高発現群は mesenchymal subtype の特徴を持っており、予後不良の性質と関連することが明らかとなった。

以上より、FMNL1 は GBM での予後不良因子であり、FMNL1 の発現上昇は DIAPH1 を介して遊走能を、GOLGA2 を介して浸潤能を亢進させていると考えられた。また FMNL1 は mesenchymal subtype GBM の良い分子マーカーであり、治療標的となる可能性が示唆された。