

No.	25-2162	
Project Title	自己複製制御異常による幹細胞からのメラノーマ発症メカニズムの解明	
Principal Investigator	Takeshi Namiki (Institute of Science Tokyo・Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Emi K Nishimura (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	毛利泰彰 (癌・細胞増殖部門、老化再生生物学分野・助教)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

2025年度（11/1～3/31）進捗状況：

本共同研究は 2025 年度より新規共同研究として開始し、現時点でほぼ 1 年が経過した。本年度は特に細胞実験を主体とした実験部分を進めており、臨床病理学的な解析の部分については研究成果をすでに論文化しているため (Nojima K et al. Pigment Cell Melanoma Research 37(1), 36–44, 2024)、その結果を基盤にしつつ細胞実験による NUAK2 機能解析を進めている。

本研究年度では、ヒトのメラノサイト (HEMn-DP と HEMn-LP) およびメラノーマ細胞 (SM2-1・MMG1 および C32) を用いて NUAK2 の変動によりどのような遺伝子群に変動がみられるかをマイクロアレイ・RNA-seq などの網羅的遺伝子解析法にて調べている。まずメラノサイトでは NUAK2 を強制発現させるためレンチウイルスを用い pLX304-NUAK2 および NUAK2 のキナーゼ活性に必須となるリン酸化部位を変異させて機能欠失としたベクター (pLX304-NUAK2 (T208A)) を作製。メラノサイトに導入することで NUAK2 がメラノサイトに強制発現できていることを確認。さらにメラノーマ細胞においても RNAi を用いることで NUAK2 のノックダウンを行い、十分な NUAK2 のノックダウンを確認した (図 1)。これらの細胞を WST-1 により独自に構築した細胞増殖アッセイ系を用いることで細胞増殖能の変化につき検証を行った。その結果として、NUAK2 を強制発現させたメラノサイトでは細胞増殖の増加が認められ、NUAK2 をノックダウンしたメラノーマ細胞では細胞増殖の抑制が認められた (図 2)。このことより NUAK2 は少なくともメラノサイト系譜細胞において細胞増殖を促進させる作用があると想定した。さらにそのメカニズムを解明するため、まず SM2-1 メラノーマ細胞を RNAi によりノックダウンした細胞を使用してマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。この解析では複数の細胞増殖に関わるパスウェイに変動が見られており、特に mTOR 関連遺伝子群が強い有意差をもって変動していた (図 3)。現在さらにメラノサイトでの RNA-seq 解析やウェスタンブロット法などにより個々の遺伝子の発現変動などにつき解析を進めている。

