

氏名	佐藤 泰樹		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8243 号		
学位授与年月	平成 29年 3月 24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	肺腺癌における IGBP1 高発現と悪性化の機序の解明		
主査	筑波大学教授	医学博士	加藤 光保
副査	筑波大学教授	医学博士	久武 幸司
副査	筑波大学准教授	医学博士	内田 和彦
副査	筑波大学講師	博士（医学）	後藤 行延

論文の内容の要旨

佐藤泰樹氏の博士学位論文は、肺腺癌の悪性化に伴って発現が亢進することが所属研究室の先行研究により明らかにされた Immunoglobulin (CD79) binding protein 1 (IGBP1)の発現制御機構に着目し、肺癌において IGFBP1 の発現を抑制していることが知られていた miR-34b に加え、miR-3941 の発現も浸潤性肺癌で低下し、IGBP1 を標的としており、さらに miR-3941 mimic の発現により肺癌細胞にアポトーシスが誘導されることを示したものである。その要旨は、以下の通りである。

（目的）

著者はまず、所属研究室の先行研究により、肺の非浸潤癌ないし微少浸潤癌と比較して浸潤癌で発現が亢進している遺伝子として IGBP1 が同定されたことを述べている。IGBP-1 の発現亢進は予後とも相関し、肺腺癌の悪性化に関わることが示唆されている。マウスを用いた化学発癌実験においても、癌細胞で発現が亢進していたラクトフェリンが結合する分子として IGBP1 が同定されている。IGBP1 は、アポトーシス誘導能がある脱リン酸化酵素 PP2A の酵素活性を担う PP2Ac に結合し、PP2Ac によるアポトーシス誘導を抑制していることが報告されている。また、ラクトフェリンは IGBP1 と PP2Ac の結合を阻害し、アポトーシスを誘導することが示されている。これまでに、IGBP1 の遺伝子変異や DNA メチル化、あるいは遺伝子増幅などのゲノム異常は報告されていないが、IGBP-1 の発現を抑制する miR-34b の発現が肺癌で低下していることが報告されている。これらの先行研究から、著者は、浸潤性肺腺癌で発現が低下し、肺癌の悪性化に関わる IGBP-1 の発現を制御している miRNA の網羅的解析を行うことを目的として本研究を行っている。

（方法）

浸潤性腺癌 2 例(IGBP1 陽性)と、微少浸潤性腺癌 1 例(IGBP1 陰性)の新鮮材料から抽出した total RNA を用いて microRNA アレイ解析を行っている。また、IGBP1 陽性浸潤性腺癌と IGBP1 陰性微少浸潤性腺癌で発現差が認められた miRNA と、miRNA の標的遺伝子を予測するためのデータベースである TargetScan Human (release 6.2)によって IGBP1 messenger RNA と結合すること

が推測された miRNA のリストから両者に共通に含まれる miRNA を抽出している。さらに、IGBP1 の 3'-untranslated region (UTR) の配列を用いた含んだルシフェラーゼレポーターと候補 miRNA mimic を肺腺癌細胞株に共導入することにより、IGBP1 の発現を抑制する活性について評価している。また、肺腺癌細胞株に候補 miRNA mimic を導入して、細胞増殖とアポトーシスに対する効果も検討している。

(結果)

まず著者らは、微少浸潤性腺癌に対して、浸潤性腺癌で 2 倍以上に発現が亢進している miRNA として 63 個を同定している。TargetScan Human(release 6.2)による検索では、IGBP1 の messenger RNA に結合することが予測される miRNA として 79 個を同定している。両者には 6 個の miRNA (miR-34b, miR-138, miR-374a, miR-374b, miR-1909, miR-3941) が共通に含まれている。Real-time RT-PCR により浸潤性肺腺癌と周囲正常肺組織での候補 miRNA の発現を比較した結果、miR-34b, miR-138, miR-374a, miR-1909, miR-3941 は癌で有意に発現が低下していることが確認されている。ルシフェラーゼレポーターアッセイでは、miR-34b mimic と miR-3941 mimic の 2 種類でルシフェラーゼ活性の抑制が確認されている。

これら 2 つの miRNA mimic を肺腺癌細胞株(PC-9)に導入すると、いずれにおいても細胞数の減少がみられている。さらに miR-3941 mimic では IGBP1-specific siRNA (siIGBP1)と同様に IGBP1 を抑制したほか、アポトーシスの指標である cleaved caspase-3 および cleaved PARP も誘導されていた。もう一つの肺腺癌細胞である A549 を用いた検討では、miR-34b、miR-3941 ともに IGBP1 の発現を同程度に抑制したが、PC-9 を用いた検討では、miR-3941 による IGBP1 の発現の抑制およびアポトーシスの誘導は miR-34b による作用よりも顕著であった。

(考察)

本研究によって著者は、miR-34b に加えて、miR-3941 も肺癌細胞で発現が低下し、IGBP1 の発現が亢進することに関わっていることを明らかにしている。miR-34 family (miR-34a, miR-34b, miR-34c) と悪性腫瘍の関係については多数の報告があるが、miR-3941 と悪性腫瘍の関連については、急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)において、insulin-like growth factor (IGF) の 3'UTR の遺伝子多型が、いくつかの miRNA との結合性に影響し、患者予後と関与するという報告の中で、これに関与する miRNA として miR-3941 も含まれていたのみである。miR-3941 は miR-34b よりも効果の高い IGBP1 の抑制因子である可能性があり、今後、肺癌の治療への応用も期待されると述べている。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、浸潤性肺癌において発現が低下し、IGBP-1 の発現亢進に関与している miRNA として既知の miR-34b に加え、miR-3941 を同定している。本研究は当該分野における研究の世界における動向を考慮して計画されており、信頼性の高い研究結果が得られ、学術的価値の高いオリジナルな研究成果が得られていると評価する。

平成 29 年 1 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。