

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 413 号	学位申請者	上川路 和人
審査委員	主査	古川 龍彦	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	中川 昌之	副査 佐藤 雅美
	副査	橋口 照人	副査 畑中 一仁

**Regulation of *LOXL2* and *SERPINH1* by antitumor *microRNA-29a* in lung cancer with idiopathic pulmonary fibrosis.**

(肺癌合併特発性肺線維症において *LOXL2* と *SERPINH1* は癌抑制型 *microRNA-29a* の制御を受ける)

特発性肺線維症は肺癌の合併率が高く、両疾患の病態に何らかの共通の分子メカニズムの存在が示唆されるが、明らかでない。本研究で学位申請者は、特発性肺線維症と肺癌の *microRNA* 発現プロファイルに基づき、両疾患の病態に共通する *microRNA* の抽出と機能解析、およびその標的遺伝子の探索を試み、共通して発現が低下していた *microRNA-29 family* に着目した。

肺癌合併特発性肺線維症 8 検体、正常肺 17 検体から RNA を抽出し、qRT-PCR 法で検証した。その結果、正常肺組織と比較して、肺線維症部位、肺癌部位における *microRNA-29a (miR-29a)* の発現低下を確認し、*miR-29a* が両疾患に共通する疾患抑制型 *microRNA* であると考えた。次に、肺扁平上皮癌細胞株 (EBC-1)、肺腺癌細胞株 (A549) および肺線維芽細胞株 (MRC-5) に *miR-29a* を導入し機能解析した。また、公共データベース (TargetScan、Gene Expression Omnibus) と *miR-29a* 導入細胞の遺伝子発現データ (マイクロアレイ解析) を統合し、*miR-29a* の標的遺伝子を抽出した。qRT-PCR 法および Western blotting で標的遺伝子の発現を評価し、ルシフェラーゼレポーターアッセイで *miR-29a* による標的遺伝子の直接制御を評価した。さらに免疫組織化学で臨床検体における標的遺伝子の発現を評価した。

本研究で以下の知見が明らかになった。

- 1) 肺癌合併特発性肺線維症の臨床検体では、肺線維症組織および肺癌組織で *miR-29a* の発現が低下していた。
- 2) *miR-29a* の核酸導入により、肺癌細胞 (EBC-1、A549) の増殖、遊走、浸潤および肺線維芽細胞 (MRC-5) の増殖および遊走が抑制された。
- 3) 修飾アンチセンス核酸で *miR-29a* を阻害すると、肺癌細胞 (EBC-1) の増殖、遊走、浸潤が亢進した。
- 4) 公共データベースと *miR-29a* 導入細胞の遺伝子発現データを統合し、*miR-29a* の標的遺伝子として *LOXL2* と *SERPINH1* を選出した。
- 5) *miR-29a* の核酸導入により、*LOXL2* と *SERPINH1* の発現が抑制された。
- 6) 修飾アンチセンス核酸で *miR-29a* を阻害すると、*LOXL2* と *SERPINH1* の発現が亢進した。
- 7) *LOXL2*、*SERPINH1* は、肺癌合併特発性肺線維症臨床検体の肺線維症部位と肺癌部位で高発現していた。

本研究は、*miR-29a* を起点とした分子ネットワークの解析により *LOXL2*、*SERPINH1* が特発性肺線維症と肺癌の両病態の進展に関与していることを示した。

これらの結果は、両疾患の共通の分子病態の解明や創薬への可能性を提示するものである。

よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。