

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第	407号	学位申請者	隈元 朋洋
審査委員	主査	橋口 照人	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	佐藤 雅美	副査	古川 龍彦
	副査	久保田 龍二	副査	畑中 一仁
<p>Regulation of <i>TPD52</i> by antitumor <i>microRNA-218</i> suppresses cancer cell migration and invasion in lung squamous cell carcinoma  (肺扁平上皮癌において癌抑制型 <i>microRNA-218</i> は <i>TPD52</i> を制御して癌細胞の遊走能、浸潤能を抑制する)</p> <p>学位申請者らは、癌抑制型 <i>microRNA</i> に着目し、癌促進に関与する機能性 RNA 分子ネットワークの解析を行ってきた。今回、有効な治療選択肢が限られている肺扁平上皮癌を対象とし、多くの癌種において癌抑制型 <i>microRNA</i> と報告されている <i>microRNA-218</i> (<i>miR-218</i>) に着目し、<i>miR-218</i> の機能解析と <i>miR-218</i> が制御する機能性 RNA 分子ネットワークの解析を行った。</p> <p>肺扁平上皮癌手術検体を用いて、肺扁平上皮癌部 (n = 31) および非癌部 (n = 24) から全 RNA を抽出し、qRT-PCR 法により <i>miR-218</i> の発現を解析した。肺扁平上皮癌細胞株である EBC-1、SK-MES-1 に <i>miR-218</i> を核酸導入し、増殖能、遊走能、浸潤能の評価を行った。<i>miR-218</i> を核酸導入した EBC-1 の遺伝子発現データと公共のデータベース (TargetScan, Gene Expression Omnibus) を統合し、<i>miR-218</i> が制御する標的遺伝子を選出した。<i>miR-218</i> を核酸導入した EBC-1、SK-MES-1 で標的遺伝子の発現を qRT-PCR 法、Western blotting で評価した。ルシフェラーゼ・レポーターアッセイにより、<i>miR-218</i> と標的遺伝子の直接的な結合を検証した。臨床検体における標的遺伝子の蛋白発現を免疫染色にて評価した。また、標的遺伝子の siRNA を核酸導入した細胞株を用いて機能解析を行い、更に標的遺伝子によって制御を受ける分子経路について探索した。</p> <p>本研究では以下の知見を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) <i>miR-218</i> は正常肺組織と比較し、肺扁平上皮癌部の組織および肺扁平上皮癌細胞株 (EBC-1、SK-MES-1) で有意に発現が抑制された。</li> <li>2) <i>miR-218</i> を核酸導入した EBC-1、SK-MES-1 において、増殖能、遊走能、浸潤能が抑制された。</li> <li>3) <i>miR-218</i> を核酸導入した EBC-1 の遺伝子発現データと公共のデータベースから、<i>miR-218</i> が制御する標的遺伝子候補として <i>tumor protein D52</i> (<i>TPD52</i>) を選出した。</li> <li>4) <i>miR-218</i> を核酸導入した EBC-1、SK-MES-1 において、<i>TPD52</i> 発現が抑制された。</li> <li>5) ルシフェラーゼ・レポーターアッセイにより <i>miR-218</i> が <i>TPD52</i> の 3' UTR に直接結合することを確認した。</li> <li>6) 肺扁平上皮癌部において、免疫染色で非癌部と比較して <i>TPD52</i> の高発現を確認した。</li> <li>7) si-<i>TPD52</i> を核酸導入した EBC-1、SK-MES-1 において、遊走能、浸潤能が抑制された。</li> <li>8) si-<i>TPD52</i> を核酸導入した EBC-1 の遺伝子発現解析の結果から、<i>TPD52</i> によって制御を受ける分子経路として、細胞増殖に関連する cell cycle、DNA replication、p53 signaling pathway が選出された。この分子経路には、<i>TTK protein kinase</i> (<i>TTK</i>) など上皮間葉移行への関与が報告されている遺伝子も複数含まれていた。</li> </ol> <p>本研究により、肺扁平上皮癌において <i>miR-218</i> は <i>TPD52</i> を直接制御する癌抑制型 <i>microRNA</i> であることが明らかとなった。癌抑制型 <i>microRNA</i> を起点とした癌促進に関与する機能性 RNA 分子ネットワークの解析により、新規治療標的が同定できる可能性が示唆された。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。</p>				