

## 論文審査の要旨

報告番号	総論第	37号	学位申請者	水野 圭子
審査委員	主査	橋口 照人	学位	博士(医学)
	副査	佐藤 雅美	副査	古川 龍彦
	副査	久保田 龍二	副査	原 博満

### Tumor-suppressive *microRNA-29* family inhibits cancer cell migration and invasion directly targeting *LOXL2* in lung squamous cell carcinoma

(腫瘍抑制性 *microRNA-29* ファミリーは肺扁平上皮癌において *LOXL2* を直接標的として癌細胞の遊走と浸潤を阻害する)

肺癌は罹患患者数、死亡者数とも多く、日本におけるがん死亡原因の第一位を占める疾患である。近年、分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬の上昇が相次ぎ、肺癌の予後は大きく改善していると言われているが、肺扁平上皮癌は非扁平上皮癌と比較して著しく予後が悪い。治療標的となる分子異常は未だ発見されておらず、分子標的薬の適応とはならない。肺扁平上皮癌は、難治性癌の一つとして更なる治療薬の開発が望まれている疾患である。

本研究の中心となる *microRNA* (以下 *miRNA*) は、内在性の短い(長さ 19~22 塩基)ノンコーディング RNA であり、翻訳を抑制するか、または RNA 転写産物を配列特異的に切断することによってタンパク質をコードする遺伝子の発現を調節する。*miRNA* は多くのヒトの癌において異常に発現されており、ヒトの発癌および浸潤・転移において重要な役割を果たすことが示唆されている。

学位申請者らは、非小細胞肺癌および肺線維症に共通して発現低下が認められる *miR-29 family* に着目し、*miRNA* を起点とした肺扁平上皮癌の分子ネットワークの解明を目標に研究に取り組んだ。肺扁平上皮癌切除症例 32 検体を対象とし、*miR-29s* の発現を確認した。また肺扁平上皮癌細胞株を用いて、*miR-29s* 核酸導入による機能解析を行った。さらに *miR-29s* が制御する遺伝子の中からリシルオキシダーゼ (*LOX*) ファミリーの一つである *LOXL2* を探索し、*si-LOXL2* を用いた遺伝子抑制による機能解析も行った。また肺扁平上皮癌臨床検体における *LOXL2* の発現を免疫染色で確認した。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) 肺扁平上皮癌臨床検体において *miR-29 family* (*miR-29a, 29b, 29c*) の発現は低下していた。細胞株でも同様に発現の低下が認められた。*miR-29a, 29b, 29c* の発現は各々相関していた。
- 2) 肺扁平上皮癌細胞株に *miR-29 family* (*miR-29a, miR-29b, miR-29c*) を核酸導入することにより、癌細胞の遊走能・浸潤能は有意に抑制された。
- 3) *miR-29 family* (*miR-29a, miR-29b, miR-29c*) の核酸導入により肺扁平上皮癌細胞における *LOXL2* の発現が抑制された。またルシフェラーゼレポーターアッセイにより *LOXL2* は *miR-29s* に直接制御されることがわかった。
- 4) *si-LOXL2* を用いて肺扁平上皮癌細胞株の遺伝子サイレンシングを行うと、*LOXL2/LOXL2* の発現は mRNA レベルでもタンパクレベルでも抑制されており、その癌細胞の遊走能・浸潤能は有意に低下していた。
- 5) 肺扁平上皮癌の臨床検体で *LOXL2* タンパクの発現は亢進していた。

以上より、*miR-29 family* は肺扁平上皮癌において癌抑制的に働き、*LOXL2* を直接標的として癌細胞の遊走と浸潤を阻害することが明らかになった。

本研究は、難治性疾患である肺扁平上皮癌における *miR-29 family* の分子ネットワークの一部を解明し、更に肺癌治療開発の一助となることが期待できる成果であると考えられる。

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。