

論文審査の要旨

報告番号	総研第 559 号		学位申請者	末次 隆行
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	武田 泰生	副査	橋口 照人

Downregulation of matrix metalloproteinase 14 by the antitumor miRNA, miR-150-5p, inhibits the aggressiveness of lung squamous cell carcinoma cells

(癌抑制型マイクロ RNA (miR-150-5p) は matrix metalloproteinase 14 を制御して肺扁平上皮癌の増悪を抑制する)

学位申請者は、マイクロ RNA による癌の制御に着目し、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する研究を行っている。頭頸部扁平上皮癌では、miR-150-5p は、癌抑制型マイクロ RNA として機能していることが報告されているが、肺扁平上皮癌での機能は不明であった。今回、肺扁平上皮癌における miR-150-5p の機能解析と miR-150-5p が制御する機能性 RNA 分子ネットワークの解析を行った。

肺扁平上皮癌手術検体を用いて、癌部 (n=33) および非癌部 (n=24) から全 RNA を抽出し、qRT-PCR 法により miR-150-5p の発現を解析した。また、肺扁平上皮癌細胞株である EBC-1、SK-MES-1 に miR-150-5p を核酸導入し、増殖能、遊走能、浸潤能の評価を行った。更に、公共のデータベース (TargetScan, Gene Expression Omnibus) と miR-150-5p を核酸導入した EBC-1 の遺伝子発現データとを統合し、miR-150-5p が制御する標的遺伝子を選出した。実際には、miR-150-5p 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、miR-150-5p 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。

本研究では以下の知見を明らかにした。

- 1) miR-150-5p 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。
- 2) miR-150-5p を核酸導入した細胞株において増殖能、遊走能、浸潤能が抑制された。
- 3) miR-150-5p 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、miR-150-5p が制御する標的遺伝子候補として 9 個の遺伝子を見出し、matrix metalloproteinase 14 (MMP14) を選出した。
- 4) miR-150-5p を核酸導入した EBC-1、SK-MES-1 において、MMP14 の発現が抑制された。
- 5) ルシフェラーゼ・レポーターアッセイにより miR-150-5p が MMP14 の 3' UTR に直接結合することを確認した。
- 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 MMP14 の高発現を確認した。
- 7) siMMP14 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。
- 8) siMMP14 を核酸導入した EBC-1 の遺伝子発現解析の結果から、MMP14 によって制御を受ける分子経路の探索を行った。解析の結果、92 種類の遺伝子が MMP14 により制御されていることが示唆された。

本研究により、肺扁平上皮癌において miR-150-5p は MMP14 を直接制御する癌抑制型 microRNA であることが明らかとなった。また、本研究の継続から、肺扁平上皮癌の治療標的分子、予後予測マーカーが見いだせる可能性も示された。

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。