

論文審査の要旨

報告番号	総研第 603 号	学位申請者	眞田 宏樹
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	久保田 龍二	副査 橋口 照人

Involvement of Dual Strands of *miR-143* (*miR-143-5p* and *miR-143-3p*) and Their Target

Oncogenes in the Molecular Pathogenesis of Lung Adenocarcinoma

肺腺癌に対する *miR-143-5p* および *miR-143-3p* とその標的癌遺伝子の関与

学位申請者らのグループは、マイクロ RNA による癌の制御に着目し、肺腺癌を対象とした研究を行ってきた。すでに、肺腺癌において *miR-145-5p* と *miR-145-3p* のいずれもが癌抑制型マイクロ RNA として機能することを以前に報告している。しかし、*miR-145* とクラスターを形成する *miR-143* の肺腺癌における機能についての報告はない。本研究では、肺腺癌において二本鎖 *miR-143* のパッセンジャー鎖である *miR-143-5p* を研究対象として、その機能解析と *miR-143-5p* が制御する標的遺伝子の探索、検証を行った。

肺腺癌手術検体を用いて、肺癌部 (n=19) および非癌部 (n=24) から RNA を抽出し、qRT-PCR 法により *miR-143-5p/3p* の発現を解析した。肺腺癌細胞株である A549、H1299 に *miR-143-5p/3p* を核酸導入し、増殖能、遊走能、浸潤能の評価を行った。公共のデータベースと、*miR-143-5p* を核酸導入した A549 の遺伝子発現データとを統合し、*miR-143-5p* が制御する標的候補遺伝子を選出した。*miR-143-5p* の標的候補遺伝子とその産物蛋白質に関して、*miR-143-5p* を核酸導入した A549、H1299 での発現を 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-143-5p* と標的候補遺伝子の直接的な結合を検証した。標的候補遺伝子の siRNA を核酸導入した細胞株を用いて、機能解析を行った。臨床検体における標的遺伝子の蛋白発現を免疫染色で評価した。

本研究では以下の知見を明らかにした。

- 1) *miR-143-5p/3p* は正常肺組織と比較し、肺腺癌組織および A549、H1299 で有意に発現が低下していた。
- 2) *miR-143-5p* 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。*miR-143-3p* の核酸導入では A549 の増殖能抑制は軽度であった。
- 3) *miR-143-5p* を核酸導入した A549 の遺伝子発現データと、公共のデータベースから、*miR-143-5p* が制御する標的遺伝子候補として 22 個の遺伝子を抽出した。最終的に、肺腺癌において高発現しており、予後不良因子となる *MCM4* (Minichromosome Maintenance Complex Component 4) に着目した。
- 4) *miR-143-5p* を核酸導入した A549、H1299 において、*MCM4* 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で、*miR-143-5p* が *MCM4* の 3' UTR へ直接結合することを確認した。
- 6) si-*MCM4* を核酸導入した A549、H1299 において増殖能、遊走能、浸潤能が抑制された。
- 7) 免疫染色では、肺腺癌において非癌部と比較して、*MCM4* の高発現を確認した。

本研究により、学位申請者は、肺腺癌においてパッセンジャー鎖である *miR-143-5p* が癌抑制型マイクロ RNA であることを明らかにした。さらに *miR-143-5p* の標的遺伝子の 1 つである *MCM4* は、肺腺癌の増殖や進展、臨床上的予後に関連し、治療標的になりうると考えられる。以上より本研究は、肺腺癌治療開発の一助となることが期待できる成果と考える。

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。