

論文審査の要旨

報告番号	総研第 605 号	学位申請者	米澤 智一
審査委員	主査	武田 泰生	学位
	副査	古川 龍彦	副査
	副査	吉本 幸司	副査
			博士 (医学)
			大塚 隆生
			橋口 照人

Downregulation of microRNA-1274a induces cell apoptosis through regulation of BMPR1B in clear cell renal cell carcinoma

(淡明腎細胞癌において、miRNA-1274a を抑制することにより BMPR1B の発現が回復し、癌細胞のアポトーシスが誘導される)

血管新生阻害剤に代表される分子標的治療薬は、進行性腎細胞癌の治療戦略を進歩させたが治癒効果に乏しい。そのためより良い治療法開発を目的に、本癌腫の分子メカニズムをより深く解明することが必要である。癌抑制的な microRNA に関する多数の報告に比べて、癌促進的な microRNA に関する報告は少ない。腎癌臨床検体で発現が亢進している microRNA は、癌促進的な機能を有すると推定され、学位申請者らはそれらの中から miRNA-1274a に注目してその発現や機能を解析し、本 microRNA が制御するパスウェイおよび標的遺伝子を探索した。以前当科が報告した、腎癌臨床検体と正常腎検体それぞれ 40 例における microRNA 発現のアレイデータから、miRNA-1274a に注目して腎癌細胞株(786-0, A498, ACHN, Caki1)および臨床検体における発現を解析した。アンチセンス鎖インヒビター(anti-miR1274a)を核酸導入して miRNA-1274a 発現をノックダウンし、細胞増殖能とアポトーシス誘導の変化を解析した。腎癌細胞株 ACHN の miR-1274a をノックダウンし、得られたアレイデータからノックダウン後に発現が亢進している 694 個の標的候補遺伝子を同定した。これらの遺伝子群に対して、GENECODIS3.0・Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)パスウェイ・GEO データベース・Target Scan algorithm を組みあわせて in silico の解析を行い、9 個の標的候補遺伝子を同定した。標的候補遺伝子として BMPR1B に注目し、3' UTR の予想結合領域に miRNA-1274a が結合することを、デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイにて解析した。さらに The Cancer Genome Atlas (TCGA)データベースを用いて、候補遺伝子の発現を、正常腎検体と腎癌検体間で比較した。また、BMPR1B 遺伝子の発現レベルと生命予後の関係について解析した。最後に、組織マイクロアレイを用いて正常腎検体と腎癌検体における免疫組織学的染色を行い、正常部と腫瘍部の発現スコアを比較した。

- 1) 定量的 PCR 解析にて、腎癌臨床検体および腎癌細胞株は正常腎と比べて、miR-1274a の発現が有意に亢進していた。
- 2) miR-1274a の発現が低下した腎癌細胞株ではアポトーシスが抑制された。また細胞増殖能が低下した。
- 3) miR-1274a の標的候補遺伝子として 9 個の遺伝子を抽出し、BMPR1B を同定した。
- 4) TCGA のデータを用いた腎癌臨床検体における発現解析では、正常腎群と比べて腎癌群では BMPR1B の発現は低値であった。しかし一方、腎癌のみのコホートにおいて BMPR1B 高値の群は低値の群に比して生命予後が不良であった。
- 5) 免疫組織学的染色において、腎癌臨床検体における BMPR1B の発現スコアは、正常検体に比して低値であったが、高悪性度腎癌では低悪性度腎癌に比して同発現が高値であることが示された。

本論文はこれまで報告が少なかった癌促進的な microRNA に関する報告である。標的として同定した BMPR1B の機能は、癌悪性度が増すと癌抑制的機能から癌促進的機能にスイッチする可能性が示され、癌腫の分子メカニズム解明にあつた方向性を与えるものであり、興味深い。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。