

論文審査の要旨

報告番号	総研第 658 号		学位申請者	永田 俊行
審査委員	主査	大塚 隆生	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	井上 博雅	副査	金蔵 拓郎
	副査	榎田 英樹	副査	原口 みさ子

BHLHE41/DEC2 Expression Induces Autophagic Cell Death in Lung Cancer Cells and is Associated with Favorable Prognosis for Patients with Lung Adenocarcinoma

BHLHE41/DEC2 の発現は肺癌細胞の自食細胞死を誘導し、肺腺癌患者の良好な予後と関連している

BHLHE41/DEC2 は、basic helix-loop-helix family に属し、E-box に結合する抑制性の転写制御因子である。一方、DEC2 は腫瘍によってがんの促進分子としても抑制因子としても報告されている。学位申請者らは DEC2 の非小細胞肺癌での役割について調べた。まず非小細胞肺癌患者の TCGA のデータを用いて DEC2 の RNA 発現を *in silico* 解析し、次に臨床検体 177 検体を用いて免疫組織学的解析により DEC2 蛋白質の発現解析を行って、発現と予後との関係を調べた。また、肺腺癌細胞株 A549、H2030 の DEC2 発現誘導細胞を作製し、細胞の生存については MTT cell proliferation assay、蛋白質の発現変化は immunoblotting、Autophagy flux assay 等を行って DEC2 の肺癌細胞での働きを調べ、ヌードマウスを用いた異種移植での DEC2 発現誘導による腫瘍増殖に対する効果の検討を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) TCGA のデータ解析から、肺腺癌では DEC2 の発現は有意に予後良好の因子であった。
- 2) DEC2 の蛋白発現は、非小細胞肺癌 17/177 例 (9.6%)、腺癌 15/132 例 (11.4%)、非腺癌 2/45 例 (4.4%) であった。DEC2 の発現は、正常肺と肺腺癌の非浸潤部 (上皮内癌、浸潤癌の lepidic growth pattern)、腫瘍浸潤が気管支内に限局している早期肺門部肺扁平上皮癌で確認されたが、腫瘍の浸潤部ではほとんど認めなかった。
- 3) 肺腺癌症例は、DEC2 発現陽性群と陰性群の間で胸膜浸潤、T 因子、病理病期、5 年生存率、補正生存率で有意差を認めたが、肺扁平上皮癌症例では有意差はなかった。予後因子解析では、DEC2 の発現が予後に与える影響は傾向を認めたが、独立した予後因子には残らなかった。
- 4) 肺腺癌細胞 A549 と H2030 は、DEC2 の発現誘導条件下で有意な細胞増殖の抑制を認めた。
- 5) 異種移植において、DEC2 の発現誘導条件下で有意な A549 細胞の腫瘍細胞増殖抑制を認めた。
- 6) A549、H2030 細胞では、DEC2 の発現誘導によりオートファジーが誘導され、その阻害剤処理で細胞増殖抑制効果が軽減された。

本研究は、DEC2 の発現と非小細胞肺癌患者の予後との相関関係を調べ、肺癌の発生と進行における DEC2 の役割を検討したものであり、非小細胞肺癌の浸潤化にともなって DEC2 の発現は早期に減少し、*in vitro*、*in vivo* で DEC2 の発現誘導により細胞増殖がオートファジーの誘導により抑制されることから非浸潤癌から浸潤癌への悪性化進展の抑制に関連することが示唆された。DEC2 の発現がオートファジーを介して、初期の肺癌の進行を抑制している可能性を示し、肺癌の発生に関わることを示した点で非常に興味深い。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。