

論文審査の要旨

報告番号	総研第 697 号	学位申請者	谷川 健悟
審査委員	主査	橋口 照人	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	榎田 英樹	副査 大塚 隆生
	副査	奥野 浩行	副査 上田 和弘

MicroRNA signature of small cell lung cancer after treatment failure:

impact on oncogenic targets by miR-30a-3p control

治療抵抗性小細胞肺癌における microRNA 発現パターンの解析:

miR-30a-3p 制御による癌促進遺伝子への影響

学位申請者は、microRNA (miRNA) による癌の制御に着目し、小細胞肺癌を対象とした研究を行つた。小細胞肺癌は進行が早く外科的切除の適応となることが少ないため、臨床検体が得難く、小細胞肺癌の miRNA の発現を解析した報告は少数である。本研究では治療抵抗性となった小細胞肺癌患者の病理解剖検体を使用して RNA シーケンスを行い、新たな miRNA 発現パターン解析から発現の低下している miRNA を同定した。その中から miR-30a-5p および miR-30a-3p に着目して機能解析を行い、パッセンジャー鎖である miR-30a-3p が制御する遺伝子の探索、検証を行つた。

病理解剖を行つた治療抵抗性小細胞肺癌 3 症例の 12 検体 (癌部 8 検体、正常肺部 4 検体) から RNA を抽出し、RNA シーケンスを行つた。RNA シーケンス解析データから正常肺部と比較して癌部でガイド鎖とパッセンジャー鎖の両方の発現が低下している miRNA を特定した。その内、正常肺部で発現の最も高かつた miR-30a-5p / -3p の機能解析を行つた。小細胞肺癌の細胞株である SBC-3、H182 に miR-30a-5p / -3p を核酸導入して増殖能、細胞周期、アポトーシス、遊走能の評価を行つた。パッセンジャー鎖の miR-30a-3p の標的候補遺伝子を TargetScanHuman database、GEO database から絞り込み、細胞周期に関連した遺伝子である DONSON を選択した。DONSON が miR-30a-3p により直接制御されているかを確認するため RT-qPCR、免疫沈降、ルシフェラーゼ・レポーター・アッセイ、Western blotting で評価を行つた。DONSON の siRNA を使用して loss-of-function assay を行い、増殖能、細胞周期、アポトーシス、遊走能の評価を行つた。さらに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) 正常肺部と比較して治療抵抗性小細胞肺癌で発現が低下している miRNA を 49 種特定した。
- 2) 49 個のうち miR-30a、miR-34b、miR-34c、miR-223、miR-4529 の 5 つでガイド鎖とパッセンジャー鎖両方の発現が癌部で低下していた。
- 3) miR-30a-5p および miR-30a-3p を核酸導入した小細胞肺癌の細胞株において、増殖能の抑制、細胞周期の進行の抑制、アポトーシス細胞の増加がみられた。miR-30a-3p は遊走能の低下もみられた。
- 4) miR-30a-3p により制御される癌遺伝子候補を 25 個特定し、その中で細胞周期に関連する遺伝子の DONSON に着目し、パッセンジャー鎖の miR-30a-3p により直接制御されることを明らかにした。
- 5) siRNA を用いて DONSON をノックダウンした小細胞肺癌の細胞株において、増殖能の抑制、細胞周期の進行の抑制、アポトーシス細胞の増加、遊走能の低下がみられた。
- 6) 免疫染色では、正常肺部と比較して小細胞肺癌で DONSON が高発現していることを確認した。

本研究により、小細胞肺癌では miR-30a-5p / -3p は癌抑制型 miRNA として機能しており、パッセンジャー鎖の miR-30a-3p が標的遺伝子である DONSON を直接制御することを明らかにした。今回の解析の結果、DONSON は癌遺伝子であることが明らかとなり、小細胞肺癌の治療開発の一助になると考えられた。

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。