

論文審査の要旨

報告番号	総研第 700 号	学位申請者	平島忠寛
審査委員	主査	橋口 照人	学位
	副査	谷本 昭英	副査
	副査	榎田 英樹	副査
			博士 (医学)
			井上 博雅
			東 美智代

Molecular pathogenesis of breast cancer: impact of *miR-99a-5p* and *miR-99a-3p* regulation on oncogenic genes

乳癌の分子病因: *miR99a-5p* および *miR-99a-3p* 調節の発癌遺伝子に対する影響

乳癌罹患率は日本において1994年に胃癌を抜いて以来、第一位で現在も増加傾向にあり、全世界でも毎年200万人が罹患し、年間60万人以上が死亡している。乳癌の治療は免疫染色を用いたサブタイプに分類でき、治療選択に不可欠となっている。近年、分子標的薬の進歩でHER2陽性乳癌においては予後は改善してきているが、その他のサブタイプでは予後の改善は認めておらず、新たな治療戦略が必要である。申請者はmicroRNAを利用した癌遺伝子の探索を行い、新しい治療戦略の選択を模索できないかと考えた。

本研究では、①RNAシーケンスを用いた解析から、乳癌のmiRNA発現プロファイルを作成、②プロファイルに基づいて、*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* の癌抑制機能を明らかにすること、③*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* を起点として乳癌に特徴的な癌促進遺伝子を探索すること、④*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* 両方に制御されるFAM64Aの乳癌患者における発現が、分子標的薬の治療効果に与える影響を検証することを目的とした。

申請者は、乳癌のマикроRNAプロファイルを作成し、発現が抑制されていた*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* を乳癌細胞株(MDA-MB231, MDA-MB-157, MCF-7)に導入し細胞の増殖能・遊走能・浸潤能を評価した。miRNAの標的分子探索は、マイクロアレイ遺伝子発現解析と公共のデータベース(TCGA; The Cancer Genome Atlas)を利用し、ゲノム科学的手法で解析した。標的遺伝子の蛋白質(FAM64A)の発現を抑制し細胞の増殖能・遊走能・浸潤能を評価した。臨床検体において、FAM64Aの発現を免疫染色で評価し低発現群、高発現群におけるCDK4/6阻害薬の効果との関連を検討した。

その結果、以下の知見が得られた。

- ① 乳癌のmiRNA発現プロファイルから64種類のmicroRNAの発現が乳癌細胞で抑制されていた。本研究では、ガイド鎖、パッセンジャー鎖の両鎖の発現が抑制されていた*miR-99a*, *miR-139*, *miR-144*のうち*miR-99a-5p* (guide strand), *miR-99a-3p* (passenger strand)に着目した。
- ② TCGAデータベースを用い、乳癌組織における*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* の発現が抑制されていることを確認し、また乳癌細胞株に核酸導入することで、癌細胞の浸潤能、遊走能が抑制されることを確認した。
- ③ *miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* が制御する機能性ネットワークの探索を行った結果、*miR-99a-5p* については19の遺伝子、*miR-99a-3p* については95の遺伝子が乳癌の癌促進遺伝子の候補であることを示した。その中でTCGAデータベースで予後に影響のあった遺伝子のうち、*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* の両鎖で制御されるFAM64Aに注目した。
- ④ 乳癌細胞株においてFAM64Aの発現を抑制することで乳癌細胞の増殖能、遊走能の低下を認めた。
- ⑤ データベース上で乳癌サブタイプ別にFAM64Aの発現を確認したところ、Luminal-Aタイプにおいては正常乳腺組織とほぼ同程度だったが、その他の悪性度の高いサブタイプ(Luminal-b, HER2+, Triplenegative)の乳癌で発現が上昇していた。また、高発現患者群は低発現患者群に比べ予後は不良だった。
- ⑥ エンリッチメント解析を行い、FAM64A高発現患者群においてG2/Mチェックポイント、E2Fのパスウェイに関わる分子と関連が強く、細胞周期に関わることが示された。
- ⑦ 乳癌治療に使われる、細胞周期を抑制するCDK4/6阻害薬とFAM64Aの効果との関連を臨床乳癌組織(Luminal-A, Luminal-B)を用いて検討し、免疫染色でFAM64A高発現群が低発現群と比べPFS (Progression Free Survival) 値が有意に延長していることが確認できた。

本研究では、癌抑制型*miR-99a-5p*, *miR-99a-3p* が制御する遺伝子の探索から、両miRNAが制御する癌促進遺伝子の探索を行い、FAM64Aを見出した。FAM64Aの発現が治療効果予測因子になり得る可能性、またmiRNAベースの戦略は乳癌の分子病因の全体的な理解に有用であることが示された。

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。