

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 736 号	学位申請者	福田 皓佑
審査委員	主査	榎田 英樹	学位 博士 (医学 歯学・学術)
	副査	上野 真一	副査 中条 哲浩
	副査	上田 和弘	副査 山田 保俊

主査および副査の5名は、令和6年1月18日、学位申請者 福田皓佑 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) Coroninに着目した理由はなにか。

(回答) 我々の研究グループでは様々な癌腫においてアクチン結合タンパク、中でも Coronin に着目して報告してきた。今回 TCGA の解析で肺癌組織での Coronin の高発現を確認できたため Coronin について研究を開始するに至った。

質問2) GEO database の解析で z-score を用いた理由は何か。

(回答) GEO database 上の各アレイデータはそれぞれ異なるプラットフォームで解析を行われており、発現量の単位も異なる。異なるアレイデータを明瞭に比較するため、z-score を用いて正規化を行った。

質問3) GEO database の解析で発現量の高低は任意でカットオフを設定したのか。

(回答) 発現量の差ではなく、腫瘍組織と正常組織の2群に分けて解析を行っており、今回の解析では発現量の高低でカットオフを設定していない。

質問4) GSEA の結果の解釈について 提示した6つのグラフはどういう順番なのか。

(回答) GSEA software で解析を行うと、解析遺伝子の発現量に偏りがある遺伝子セットが表示される。表示された遺伝子セットは20セット表示された。表示された遺伝子セットのうち、上位6つを今回の論文、スライドで提示した。

質問5) CORO1C を制御する miRNA の選定について、なぜ腫瘍組織で downregulate されているものを選んだのか。

(回答) 当教室では癌促進型分子を制御する癌抑制型 miRNA に着目して研究を行ってきた。CORO1C は癌促進型分子であり、制御する miRNA は癌抑制型 miRNA であると考えられるため、癌抑制型 miRNA にしぼって探索を行った。

質問6) Upregulate した miRNA は重要ではないのか。

(回答) 癌組織で upregulate している miRNA は通常癌促進型 miRNA の可能性があり、治療標的やバイオマーカーへの応用の可能性のある重要な分子である。癌促進型 miRNA に対する実験系を確立し、研究の対象としていきたい。

質問7) TCGA の予後解析で CORO2B は有意差があるが、CORO2B に着目しなかった理由は何か。

(回答) TCGA database の予後解析では CORO2B の発現低下が有意に予後悪化と関連しており、癌促進型分子とは逆の結果であった。今後肺癌における CORO2B の機能解析や発現制御機構なども研究の対象としていきたい。

質問8) XTT assay で CORO1C のノックダウン実験の核酸導入で増殖能が低下しているが、どう解釈しているか。

(回答) CORO1C のノックダウン実験で XTT assay で増殖能がわずかに低下しており、CORO1C には増殖能を促進する機能もあると考えられる。

質問9) CORO1C の臨床応用はどうか。

最終試験の結果の要旨

736

(回答) CORO1C を阻害する低分子化合物が発見できれば、治療薬の開発につながる可能性があると考えます。また、様々な癌種で CORO1C の発現は上昇しており、バイオマーカーとして使用できる可能性があります。

質問 10) miRNA のプロファイルにはどのくらいの miRNA があるのか。腫瘍組織での発現に有意差があるのはどれくらいの数があるのか。

(回答) ヒトでは 2576 種類の miRNA が同定されており、当科で作成したプロファイルでは全ての miRNA を対象とし解析している。肺癌のプロファイルで腫瘍組織に発現が上昇している miRNA (Log FC < -1.0) は 112 種類である。

質問 11) 肺癌の性差、好発年齢はどうか。

(回答) 性差はほとんどなく、好発年齢は 60 歳以上である。

質問 12) 肺癌の前癌病変 PanIN 病変での CORO1C の発現はみたか。

(回答) 肺癌の前癌病変である PanIN、または IPMN 組織での CORO1C の発現については検討しなかった。今後、IPMN 組織の臨床検体を使用し、qPCR や免疫染色などで CORO1C の発現を確認することも検討していきたい。

質問 13) 前癌病変では一般的に肺癌で見られる変異は見ついているのか。

(回答) 肺癌で最も多い KRAS の変異は PanIN や IPMN の段階で発生していると考えられている。CORO1C の overexpression が癌化のどの段階から発生しているか調べることも今後検討していきたい。

質問 14) 今回 CORO1C を制御する複数の miRNA を同時に導入する実験は行わなかったか。

(回答) 複数の miRNA を同時に導入する実験は行っていない。今後プラスミドベクターを使用するなど、複数の miRNA を同時に細胞株に導入する実験系を確立し、miRNA の同時投与による相乗効果の確認も検討していきたい。

質問 15) CORO1C をノックダウンすることで細胞の形状が変わったか。

(回答) 光学顕微鏡による観察では目立った細胞の形状変化は確認できなかった。

質問 16) miRNA の創薬に関する問題点はあるか。

(回答) RNAase による分解の影響を減らし、腫瘍組織をはじめ標的となる組織に正確に薬剤を届ける、drug delivery system の開発が十分には進んでいないことが問題点である。

質問 17) siCORO1C を導入した細胞株を解析することで、増殖に関わる因子を探索することは行っていないのか。

(回答) 今回は CORO1C の増殖に関わる因子の探索は行っていない。siCORO1C を導入した細胞株とコントロールの細胞株を解析することで、CORO1C が増殖能促進に関する経路を探索していくことも検討していきたい。

質問 18) 肺癌の miRNA のアレイ解析のプロファイルを 3 種類使用し、絞り込みを行っているが、各プロファイルごとに解析結果が違うのはなぜなのか。肺癌の表現型や背景等の因子で変わるのか。

(回答) 実際に各アレイデータで miRNA の発現の傾向は異なることがある。患者背景や病理学的因子、検体処理や RNA 抽出の手技、解析する miRNA の種類などの違いが原因となる可能性があると考えます。

質問 19) miRNA の標的遺伝子の直接制御に関する実験は行っていないか。

(回答) 本研究では miRNA の直接制御を証明するための実験は行っていない。今後、ルシフェラーゼレポーターアッセイや RNA 免疫沈降アッセイなどによる miRNA の標的因子に対する直接制御の証明を検討していきたい。

質問 20) CORO1C の局在は調べていないか。

(回答) 今回の研究では CORO1C の局在の評価は行っていない。in situ hybridization の実験系を当科で確立し、今後、研究対象の RNA の局在を調べることも検討していきたい。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。