

論文審査の要旨

報告番号	総研第 334 号	学位申請者	井口 智生
審査委員	主査	小澤 政之	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	武田 泰生	副査 夏越 祥次
	副査	橋口 照人	副査 古川 龍彦

Tumour-suppressive *microRNA-24-1* inhibits cancer cell proliferation through targeting *FOXM1* in bladder cancer

(膀胱癌において癌抑制型 *microRNA-24-1* は *FOXM1* を制御して細胞増殖を抑制する)

microRNA (*miRNA*) は非翻訳領域にコードされる22塩基対ほどの短いRNAで、タンパクをコードするmessenger RNA (*mRNA*) の分解や翻訳阻害により遺伝子の制御を行っている。*miRNA*の中には、癌の発生や進展、さらには転移に関わるものがあることが明らかとなっており、癌抑制型*miRNA*や癌促進型*miRNA*など様々な報告がある。

microRNA-24-1 (*miR-24-1*)の機能については、大腸癌、前立腺癌、骨肉腫では癌抑制型と報告されている一方で、乳癌、舌扁平上皮癌、神経膠腫では癌促進型と報告されている。しかしながら、これまでに膀胱癌に関する報告はなかった。そこで今回学位申請者は、膀胱癌における *miR-24-1* の機能解析とその標的遺伝子の探索を行った。膀胱癌・正常膀胱の臨床検体から抽出した RNA を使用して RT-PCR 法により *miR-24-1* の発現を測定した。膀胱癌細胞株 (BOY, T24) に *miR-24-1* を核酸導入し、細胞機能解析を行った。公共データベース (TargetScan, Gene Expression Omnibus) を用いた *in silico* 解析にて、*miR-24-1* の標的遺伝子を探索し、臨床検体における発現と臨床病理学的所見との関係を検討した。ルシフェラーゼアッセイにより *miR-24-1* と標的遺伝子の結合を解析した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) *miR-24-1* の臨床検体における発現は、正常膀胱組織 (n=16) に比べて膀胱癌組織 (n=46) では有意に抑制されていた ($P < 0.0001$)。
- 2) 膀胱癌細胞株では *miR-24-1* の核酸導入により、apoptosis や G2 arrest を誘導することで腫瘍増殖が抑制された。
- 3) *In silico* 解析により *miR-24-1* の標的遺伝子として転写因子 Forkhead box protein M1 (*FOXM1*) が候補となった。
- 4) *FOXM1* の mRNA 発現は、正常膀胱に比べ膀胱癌で有意に発現が亢進していた ($P < 0.0001$)。またその発現は、組織学的異型度 (Grade) が高い群は低い群に比べて ($P = 0.0128$)、浸潤癌は筋層非浸潤癌に比べて有意に高かった ($P = 0.0093$)。
- 5) *miR-24-1* を核酸導入した膀胱癌細胞株では、mRNA・タンパクレベルにおいて *FOXM1* の発現が抑制された。またルシフェラーゼ活性の有意な低下を認め、*miR-24-1* は *FOXM1* の予測結合部位に結合することを証明した。
- 6) *FOXM1* の発現を siRNA によりノックダウンすると、細胞増殖の抑制が認められた。

本研究で、*miR-24-1* は膀胱癌では発現が抑制されており、*FOXM1* を標的として癌抑制型 *miRNA* として機能している事が明らかとなった。また癌抑制型 *miRNA-24-1* を起点とした膀胱癌の新規分子ネットワーク解析は、発癌メカニズムの解明や新しい治療法の開発につながる可能性が示唆された。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。