

論文審査の結果の要旨

氏名 コウナ ブランドン ジェームズ

細胞が造腫瘍性を獲得する原因は、一般にそれらの細胞に存在する遺伝子が突然変異を引き起こすことであると考えられている。しかし、特定の腫瘍においては、患者ごとに関連遺伝子に誘発される突然変異が多様であり、がん化の原因を特定するのが困難な場合がある。このことは、がんの治療法の開発を難しくしている。そのようながんの1種として、上皮性卵巣癌が知られているが、罹患者の平均5年生存率は58.0%である。それらのうち、卵巣明細胞腺癌 (Ovarian Clear Cell Carcinoma; OCCC) はアジアで多く、特に予後不良であり、5年生存率は20-30%と極めて低い。そこで、本研究では、その新しい治療法を開発するために、OCCCを用いて癌化に関わる遺伝子を探索し、DHX38を特定した。さらに、DHX38の腫瘍形成における機能を明らかにした。すなわち、OCCC細胞においてDHX38を抑制することでアポトーシスが誘導されることを示し、治療薬として利用できる可能性を示した。

第1章では、OCCCの増殖に重要な遺伝子を特定するために、OCCCで頻繁にみられる変異をもたないJHOC5細胞株を用いて、細胞増殖に不可欠な遺伝子をCRISPR-Cas9ノックアウト法による網羅的な遺伝子スクリーニング法によって探索した。対照細胞として、正常な卵巣表面上皮細胞株であるOSE3を用いた。その結果、JHOC5の増殖に関連する11の遺伝子を特定した。これらは、RNAスプライシングに関連する遺伝子であった。さらに、これらの遺伝子がJHOC5だけでなく、他の卵巣癌細胞でも共通に増殖に重要な遺伝子であることを確認するために、米国のブロード研究所のDepmapという公開データセットと比較解析した。その結果、DHX38というスプライシング因子が肺がんや乳がん、膵臓癌よりも卵巣癌の増殖に関与していると考えられる結果が得られた。

第2章では、この遺伝子の機能解析を行った。さまざまなOCCCおよびT抗原不死化細胞株であるOvarian Surface Epithelial (OSE)細胞株におけるRNA干渉(RNA interference; RNAi)法をもちいたノックダウンにより、第1章で実行したCRISPR-Cas9スクリーニングの結果が確認された。つまり、ノックダウンによりOCCC細胞株の増殖が著しく阻害されたが、OSE細胞株の増殖阻害は最小限に抑えられた。このOCCC特異的増殖阻害の原因を特定するために実施されたさらなる解析により、DHX38をノックダウンすると、OCCC細胞がp53非依存的にアポトーシスを起こすこと、OSE細胞ではほとんど起こらない？ことが明らかになった。さらに、アポトーシスを誘導するメカニズムをRNAシーケンスデータを用いて解析したところ、OCCC細胞において、DHX3のノックダウンがRelBシグナル経路を制御し、さらにその下流でNF κ B経路を制御していることを示唆する結果が得られた。さらにDHX3はスプライソソームに局在することがわかっている。DHX38のノック

ダウンによるスプライシングに対する作用はまだよくわかっていないが、RNA シークエンスデータの解析結果から、DHX8 のノックダウンはスプライシングパターンに影響を与えると考えられる結果が得られた。以上の結果は、第 I 章の CRISPR-Cas9 スクリーニングで同定された DHX38 遺伝子が OCCC 腫瘍形成に関与する因子であり、p53 変異とは無関係に OCCC 患者における有望な治療標的であることを示唆している。

なお、本論文は、林寛敦氏、横田直子氏、中戸隆一郎氏、白髭克彦氏、および秋山徹氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。