

論文審査の結果の要旨

氏名 関本 登

本研究では、日本人の死因の多くを占める肺腺がん由来の細胞株を用いて、肺腺がん細胞において重要な働きを担っている miRNA とその標的 mRNA の特定を試みた。生体内において、miRNA は非常に多くの遺伝子の発現を抑制しており、発がんやがんの悪性度に深く関わっていると考えられている。近年、miRNA を標的としたがん治療薬の開発や、miRNA をバイオマーカーとして実用化しようとする研究等が盛んに行われている。そのため、がん細胞における miRNA の標的 mRNA の探索や、その機能解析研究は、がんの病態メカニズムを理解する上での重要なツールとなるだけでなく、がん治療法開発等にも貢献できる可能性が考えられる。

本研究では、次世代シーケンサーを用いて取得した 26 種類の肺腺がん由来細胞株の mRNA および small RNA の発現量の比較解析を行った。

通常、がん関連遺伝子等を探索する際には、がん細胞とそれに対応した正常細胞で遺伝子発現量を比較する手法を用いるのが一般的である。しかし、本研究では、26 種類の肺腺がん由来細胞株の mRNA および miRNA の発現量の変化を比較し、相関解析を行うことによって、肺腺がん細胞の機能維持等に関わる重要な miRNA と標的 mRNA が見つかるのではないかと考えた。

miRNA は、時として mRNA の分解を介して標的 mRNA の発現量を抑制することから、miRNA とその標的 mRNA の発現量には負の相関関係が見られると考えられる。そのため、26 種類の肺腺がん由来細胞株において、多くの mRNA の発現量と負の相関を持つ miRNA は、それだけ多くの mRNA の発現を制御しており、肺腺がん細胞において重要な働きを担っている miRNA なのではないかと推測される。また、そのような miRNA の発現量と最も強い負の相関を持つ mRNA は、その miRNA の主要な標的であり、肺腺がん細胞において重要な働きをしている可能性が高いと考えられる。

以上の考え方に従って、発現データの解析を行った結果、miR-26a という miRNA の発現量が最も多くの mRNA 発現量と負の相関を持つことが判明した。また、miR-26a は、HMGA1 という遺伝子と配列の相補性を持ち、発現量にお

いて最も強い負の相関を持つことが明らかになった。HMGA1 は、がんの悪性度への関与が示唆されている遺伝子であることから、miR-26a は HMGA1 の発現を抑制することによって、がんの悪性度に関与している可能性が考えられた。

肺腺がん由来細胞株 H1299 細胞を用いて実験を行った結果、HMGA1 は miR-26a の直接の標的であることが示唆された。また、miR-26a および HMGA1 の細胞のフェノタイプに対する影響を調べるために、H1299 細胞を用い、invasion assay、migration assay および proliferation assay を行った。実験の結果、miR-26a を細胞に強制発現させると、細胞の転移能、浸潤能、増殖能が抑制されることが判明した。そして、HMGA1 をノックダウンすると、miR-26a を強制発現させた際と同様に、細胞の転移能、浸潤能、増殖能が抑制された。以上の結果から、miR-26a は HMGA1 の発現を抑制することによって、肺腺がん細胞のフェノタイプに影響を及ぼすことが示唆された。

以上、本研究によって、肺腺がん細胞における新規の miRNA と mRNA の関係性を明らかにした。本解析に用いた手法は、本研究で初めて採用した新規の解析手法である。本研究では、この解析手法を用いることで、次世代シーケンサーの解析データから、miR-26a と HMGA1 の組み合わせを絞り込むことができた。また、その後の細胞を用いた実験によって、miR-26a は実際に HMGA1 の発現を抑制し、さらに、細胞のフェノタイプに影響を及ぼすことが明らかになった。

この解析手法は、肺腺がん由来細胞株だけでなく、他のがん由来の細胞株を用いた解析研究にも応用が効くと考えられる。また、miRNA と mRNA の組み合わせだけではなく、がん細胞において重要な働きを担っている mRNA 同士の組み合わせ等も、本解析手法を用いることで見出すことができるかもしれない。本研究では、そのような新規の mRNA および miRNA 発現データ解析手法を開発したことに加え、肺腺がん細胞において細胞の転移能、浸潤能、増殖能に関与する miRNA およびその標的 mRNA を特定した。これらの発見によって、本研究はがんの病態メカニズムの解析に貢献したと考えられる。

したがって、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上 1 9 2 2 字