

論文の内容の要旨

論文題目 頭頸部がん細胞株の網羅的ゲノム解析による
新規がん関連遺伝子の発見とその機能解析

氏名 安藤 瑞生

頭頸部がんは全世界で年間 50 万人以上の罹患数（全が年中 6 位）があり、5 年生存率が未だに 50%以下の予後不良な疾患である。大多数の症例において早期診断・治療が未だ困難であり、単剤で奏功率に寄与することのできる薬剤も極めて限られている。従来型の細胞傷害性抗がん剤による治療効果はほぼ飽和していると言わざるを得ない。頭頸部がんが今以上に早期発見され根治治療が可能とならない限り、現行の診断治療法ではこれ以上の治療効果を得ることは困難と言える。

一般にがんの発生には遺伝子の点突然変異・挿入・欠失さらには遺伝子融合が深く関わっていることが知られており、薬剤による予後改善のためには、発がんに直接関連する機能分子を特異的にターゲットする分子標的療法が有望な手段であることが示されてきた。しかし、がん細胞のゲノム安定性は低いため、がんの染色体中には様々なゲノム変化が数多く存在すると予想される。このなかから発がん関連異常を同定するためには、近年急速に進歩しつつあるゲノミクス技術が有効である。本研究では、莫大な予算を必要とする国際的ながんゲノムプロジェクトが進行する現在、我が国の研究環境にあっても諸外国と伍して発がん関連異常の同定を可能にするべく、次世代シーケンサーシステムを用いて独自にがんゲノムからがん関連遺伝子の変異を検出する技術「cDNA キャプチャー法」を用い、ヒトのがん細胞株を対象としてがん関連遺伝子の新規配列異常や融合遺伝子などの同定を目指した。

具体的には、今回の研究によって、日本人の口腔扁平上皮がん由来する細胞株において ETS (E-twenty six) ファミリーに属する転写因子の変異を新規に見出し、同細胞株に野生型を強制発現させると細胞増殖が強く抑制されるが、変異体では細胞数はほとんど変化しないことを発見した。つまり野生型の有する細胞増殖抑制作用の機能失活型変異体が発がんに寄与していることを突き止めた。さらに、同じ ETS ファミリーに属する複数の転写因子も同様の細胞増殖抑制作用を有しており、広く固形腫瘍におけるが

ん抑制遺伝子として機能する可能性を指摘した。

これに加えて本研究では、同転写因子ががん抑制遺伝子としてはたらくメカニズムを詳細に検討した。実際、ヒトの悪性腫瘍検体から発見されている変異体を多数解析した結果、転写誘導活性と細胞増殖抑制作用とがよく相関することを明らかにした。また、同転写因子の細胞増殖抑制作用は、ヒト骨肉腫由来細胞株やヒト正常乳腺上皮由来細胞株においても観察された。

次に、同転写因子が発現を制御する標的遺伝子をマイクロアレイにより網羅的に探索した結果、野生型による増殖抑制シグナルの標的となる主要な2遺伝子を同定することができた。さらに、次世代シーケンサーを活用した網羅的クロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) 解析を行い、同転写因子の DNA 結合領域の網羅的検索に成功した。この解析により、少なくとも3個の未知の DNA 結合配列モチーフを同定することができた。これらは ETS ファミリーが共有する DNA 結合配列モチーフである“GGAA”とは異なるため、同転写因子が DNA に直接結合しているのではなく、複合体を形成した別の転写因子の DNA 結合配列モチーフである可能性が高い。また、ChIP-seq データの gene ontology 解析においては細胞死を司る遺伝子群のプロモーター領域への強い結合傾向が見られたが、マイクロアレイの発現解析結果を参照すると、必ずしもそれら遺伝子群の発現変動には帰結していなかった。つまり同転写因子による発現制御は、転写因子が DNA に結合する段階から最終的なタンパクの誘導に至るまでに複雑な転写制御ネットワークを介して行われていると考えられる。

本研究によってがん抑制遺伝子として機能することが明らかになった転写因子ファミリーが、どのような細胞刺激によって誘導されるのかを解明することは、今後の課題である。同転写因子は放射線照射による DNA 損傷の修復反応に関わっていることが報告されており、腫瘍検体を用いて放射線耐性との関連を明らかにしていきたい。

本研究の限界点として、日本人の腫瘍検体における同転写因子の変異頻度が未知である。本論文中で検討した様々な変異体が報告されているデータベースは主に欧米人の腫瘍検体によるものであった。同転写因子のがん抑制遺伝子としての臨床的意義を明らかにするためには、頭頸部扁平上皮がんを初めとする日本人の腫瘍検体における変異頻度を検証し、生存解析を加えていくことが必須である。