

学位論文の内容の要旨

専攻	機能構築医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	臓器制御・移植学
学籍番号	15D703	氏名	喜田裕介
論文題目	<p>Inhibition of cell-surface molecular GPR87 with GPR87-suppressing adenoviral vector disturb tumor proliferation in lung cancer cells</p> <p>肺癌細胞におけるGPR87抑制アデノウイルスベクターを用いた細胞表面分子GPR87の抑制による腫瘍増殖の阻害</p>		
<p>(論文要旨)</p> <p>背景/目的: 2017年の肺癌での死亡数は男性1位、女性2位、男女計で1位であり74,120人の方が亡くなる予後不良疾患である。分子標的薬や免疫療法など標的治療が一般的となっているが、肺癌全患者は恩恵を受けていない。肺癌の新規治療薬として新しいターゲットを特定する必要がある。GPR87は、細胞表面分子Gタンパク質共役受容体ファミリーのひとつであり、正常細胞では発現は低く、肺腺癌やいろいろな扁平上皮癌では高発現とされている。腫瘍細胞の進展や、肺腺癌では予後不良因子であることが報告され、腫瘍特異的発現と細胞表面の位置により、分子標的薬となる可能性がある。またH3.3はH3F3Aによってコードされ、GPR87発現を促進し、H3.3の遺伝子発現は、悪性細胞株のGPR87と正相関があるとされている。さらに、Rasシグナル経路は、GPR87の細胞増殖の役割のひとつとされている。本研究では、GPR87発現細胞株において遺伝子発現の阻害実験により抑制の効果を調べ、GPR87過剰発現肺癌に対する遺伝子治療の可能性を検討した。</p> <p>方法: 肺癌10株を含む20の悪性細胞株の遺伝子発現を確認し、GPR87過剰発現肺癌細胞株のH358およびPC9を阻害実験にかけた。GPR87遺伝子を標的とするショートヘアピンsiRNAを、アデノウイルスベクター(Ad-shGPR87)を用いて、ネガティブコントロールとしてスクランブル配列に対してshRNAを発現するアデノウイルスベクター(Ad-shScramble)をCOS-TPC法を用いて作成し、HEK293細胞株で増幅、CsCl超遠心法により精製し注入した。遺伝子およびタンパク質の発現を評価するために、リアルタイムRT-PCRおよびウエスタンブロット分析を実施した。In vitroでは細胞生存率をMTT assayを、in vivoではH358細胞由来の腫瘍をヌードマウスに皮下注射し、腫瘍異種移植片を形成後、皮下移植した。Ad-shGPR87とAd-shScramble群に分け、腫瘍内注射を行い腫瘍体積の検討を行った。</p> <p>結果: GPR87遺伝子発現は、mean±SD: 93.8±140.4%、median: 18.7%でみられ、medianをカットオフとする50%(10/20)の悪性細胞、特に肺癌細胞(70%、7/10)でGPR87過剰発現を認めた。H3F3Aの遺伝子発現は、GPR87遺伝子発現と正の相関があり($R^2=0.575$、$p=0.005$)、GPR87遺伝子発現はH3F3A高発現細胞でH3F3A低発現細胞よりも有意に高かった($p<0.0001$)。Ad-shGPR87は、GPR87を過剰発現するH358およびPC9細胞において遺伝子およびタンパク質の発現を抑制し($p<0.005$)、細胞増殖を段階的に有意に抑制した($p<0.005$)。ヌードマウスにおけるAd-shGPR87は、GPR87を発現するH358異種移植片に対して有意な抗腫瘍効果があった($p<0.05$)。さらに、Ad-shGPR87感染後、両方の細胞でKRASおよびc-Myc発現の有意な減少を確認した。</p> <p>結論: GPR87は癌細胞の増殖に重要な役割がある可能性があり、肺癌治療の新規標的としての可能性がある。</p>			

掲 載 誌 名	Anticancer Research		第 40 卷, 第 2 号
(公表予定) 掲 載 年 月	2020年 2月	出版社 (等) 名	International Institute of Anticancer Research
Peer Review	<input checked="" type="checkbox"/>		無

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。