

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 小 西 知 佳

主論文 1 編

EVII, a target gene for amplification at 3q26, antagonizes transforming growth factor- β -mediated growth inhibition in hepatocellular carcinoma.

Cancer Science 106:929-937, 2015

審 査 結 果 の 要 旨

肝細胞癌（以下、HCC）は世界で癌死の原因の第3位を占める。しかしその分子病理学的な成因は十分には明らかにされていない。

申請者は、HCCの発生と進展に関連する遺伝子を同定するために、高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いてHCCに発生したDNAコピー数の異常を網羅的に探索し、HCC細胞株において染色体3q26領域に新たな増幅を同定した。3q26の共通遺伝子増幅領域には*MDS1*遺伝子と*EVII*遺伝子から構成される*MECOM*遺伝子のみが座位した。FISH法でも*MDS1*と*EVII*の増幅を確認した。

*MECOM*領域から転写される*EVII*、*MDS-EVII*、*MDS1*について、どの転写産物が3q26増幅の標的であるか調べるために、TaqMan PCRを用い、HCC細胞株でそれぞれのmRNAレベルを定量した。3q26領域に著しいDNAコピー数の増加が認められたJHH-1細胞において、*MDS1*を除く*EVII*と*MDS1-EVII*は遺伝子増幅に伴って発現が亢進していた。また、タンパクレベルでもJHH-1細胞において*EVII*の発現が亢進していた。次に、HCC細胞株と同様に、HCC臨床検体においても*EVII*コピー数増加が確認された。*EVII*、*MDS-EVII*、*MDS1*のうち、*EVII* mRNAだけが非癌部と比較して癌部において有意に発現が亢進していた。以上の結果から、HCCにおいて*EVII*が3q26増幅の標的遺伝子であることが示唆された。

次に、HCC臨床検体における*EVII*発現レベルと臨床病理学的因子との関連を調べたところ、高*EVII*発現群は有意に腫瘍径が大きく、またHCCの腫瘍マーカーであるPIVKA-IIが高値であった。

最後に、*EVII*のHCC発癌における機能を調べた。JHH-1細胞において2種類のsiRNAを用いて*EVII*の発現をノックダウンした。JHH-1細胞をTGF- β で刺激すると、細胞増殖を負に制御するp15^{ink4B}の発現が誘導され、逆に細胞増殖を正に制御するc-MycやサイクリンD1の発現は抑制された。JHH-1細胞に*EVII* siRNAまたはコントロールsiRNAをトランスフェクション後にTGF- β で刺激すると、*EVII* siRNAトランスフェクションした細胞では、コントロールsiRNAをトランスフェクション細胞に比べて、TGF- β によってp15^{ink4B}の発現がより強く誘導され、逆にTGF- β によってc-MycやサイクリンD1、さらにリン酸化Rbの発現はより強く抑制された。さらに、*EVII* siRNAトランスフェクション細胞の方が、TGF- β 刺激後、DNA合成の指標であるBrdUの取り込みがより強く抑制され、細胞の生存がより著しく低下した。これらの所見から、*EVII*は、HCC細胞において、TGF- β によって誘導される細胞増殖抑制に拮抗することが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、*EVII*がHCCで高頻度に認められる3q26遺伝子増幅により活性化される遺伝子であり、TGF- β 誘導性の増殖抑制に拮抗することを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

平成28年10月20日

審査委員 教授 田 中 雅 樹 ㊦

審査委員 教授 的 場 聖 明 ㊦

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊦