

京都大学	博士（医学）	氏 名	小林 健一郎
論文題目	ARID3B induces malignant transformation of mouse embryonic fibroblasts and is strongly associated with malignant neuroblastoma (ARID3Bはマウス胎仔繊維芽細胞を悪性転化させ悪性神経芽腫と強い関連を示す)		
(論文内容の要旨)			
発癌の病態生理と個体発生には共通の分子機構が存在することが知られている。神経芽腫は神経堤細胞を発生母地とする小児期の代表的な固形腫瘍で、癌遺伝子 MYCN の遺伝子増幅が予後不良因子として知られている。しかし、発癌の病態生理とりわけ悪性化の分子機構には依然として不明な点が多い。本研究では、神経堤発生研究の知見を応用し、神経芽腫の発癌および悪性化の制御機構を分子レベルで解析した。 マウス胚性幹細胞の分化経路の解析で単離された ARID3B は DNA 結合部位 AT-rich interaction domain (ARID) を有する転写調節因子であり、胎生期の神経堤細胞に対する増殖支持活性を有する。ARID3B の発現は発生初期にのみ限局し、出生後の組織ではほとんど認めない。これらの知見をもとに本研究では、同分子の発現異常が神経堤細胞由来の腫瘍発生に関与する可能性を検討した。ヒト腫瘍サンプルを用いたマイクロアレイ法で網羅的相関検索を行った結果、ARID3B は神経芽腫、とりわけ予後不良のⅢ・Ⅳ期の進行性の悪性神経芽腫に高率かつ特異的に発現しており、予後不良と相関する新規の因子であることが示唆された。 レトロウイルスを用いて同分子を神経芽腫細胞株に強制発現させ、軟寒天コロニー形成法で解析したところ、in vitro でトランスフォーメーション活性が認められた。また、この細胞を免疫不全マウスへ移植した実験では有意に生存期間が低下したことから、同分子の発現が腫瘍の悪性度を調節していることが示された。 MYCN と ARID3B の両者をマウス胎仔繊維芽細胞 (mouse embryonic fibroblast、以下 MEF) に強制発現させると MEF は不死化され、免疫不全マウスへの移植で腫瘍を形成した。しかし MYCN あるいは ARID3B を単独で MEF に強制発現させても腫瘍形成は認めなかった。これらの結果は ARID3B が MYCN と協調して細胞増殖の異常を引き起こす新しい癌遺伝子であることを示した。 神経芽腫細胞株に対し in vitro で RNA 干渉法を用いて同分子の機能抑制を行ったところ、細胞増殖が強く抑制された。ARID3B は成体では発現が低く、悪性神経芽腫に特異的に発現する分子であることから、神経芽腫細胞の増殖に必須の ARID3B は治療抵抗性を示す悪性神経芽腫に対する分子標的治療のターゲット分子の候補になりうると考えられる。 このように本研究では、発生学を基盤とした基礎研究成果をもとに、ARID3B をヒト悪性腫瘍発生の制御分子として同定し、その機能抑制が新規の治療開発につながる可能性をも示唆した。			

（論文審査の結果の要旨）			
神経芽腫は神経堤細胞を発生母地とする小児癌である。MYCN の遺伝子増幅が予後不良因子として知られるが、発癌および悪性化の分子機構には依然として不明な点が多い。 ARID3B は DNA 結合部位 AT-rich interaction domain を有する転写調節因子である。ARID3B は発生初期に限局して発現し、かつ神経堤細胞の増殖支持活性を有することから、本研究では腫瘍化に関与する可能性を検討した。ヒト腫瘍サンプルを用いた網羅的相関検索を行った結果、ARID3B は悪性神経芽腫に高率かつ特異的に発現しており、神経芽腫の悪性化と相関する新規の因子であることが考えられた。そこで、in vitro でレトロウイルスを用いて神経芽腫細胞株に ARID3B を強制発現させるとトランスフォーメーションが誘起され、RNA 干渉法による機能抑制で細胞増殖が強く抑制された。このことは同分子が腫瘍細胞の悪性化を調節する活性を有することを示すものである。また、MYCN と ARID3B の両者を強制発現させたマウス胎仔繊維芽細胞は、免疫不全マウスへの移植により腫瘍を形成した。一方、MYCN あるいは ARID3B 単独の強制発現の場合では腫瘍形成は示さなかった。これらの結果から ARID3B は MYCN と協調して細胞の増殖異常を引き起こす癌遺伝子であることが明らかとなった。 本研究は、悪性神経芽腫の発生制御分子を同定し、その機能抑制が新規の癌制御法開発につながる可能性をも示唆するものであり、小児癌の診断・治療に貢献すると考えられる。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 2 1 年 1 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			