

京都大学	博士（医 学）	氏 名	Fabricio Loayza-Puch
論文題目	Hypoxia and RAS-signaling pathways converge on, and cooperatively downregulate, the RECK tumor-suppressor protein through microRNAs (Hypoxia と RAS シグナルはmicroRNA を介して腫瘍抑制タンパク質 RECK の発現を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
発生や病態に伴う細胞外マトリックス（ECM）リモデリングの重要な推進役としてマトリックス・メタロプロテアーゼ（MMP）ファミリーが知られている。膜アンカー型糖タンパク質 RECK は、MMP を負に制御する活性を有し、多くのヒトがんで発現低下が見られる。RECK を強制発現させた腫瘍細胞をヌードマウス皮下に移植した場合、コントロールと比べ腫瘍血管新生、浸潤、転移が低下する。また、腫瘍組織における RECK タンパク質の発現量は、患者の良好な予後と強い相関を示す。先行研究におけるこれらの知見は、RECK ががん抑制因子として機能することを示唆している。近年、がん細胞において見られる特徴的な遺伝子発現プロファイルの変化（いわゆる cancer signature）が診断や治療選択に有用な情報を与える可能性が示唆されている。microRNA に関しても、その特徴的な発現変動が腫瘍バイオマーカーとして有用であることが指摘されている。しかし、こうした情報をがん治療に役立てるためには、発現変動する microRNA の標的遺伝子のうち病因に関わるものを同定すること、また、それらの間の相互関係や発現変動のメカニズムを解明することが重要と考えられる。 本研究において、RECK 遺伝子の 3'非コード領域内に少なくとも3つの microRNA (<i>miR-15b/16</i>、<i>miR-21</i>、および <i>miR-372/373</i>) の標的となる配列が存在することを見出した。これらの標的部位を欠損させた変異 <i>RECK</i> 遺伝子は、3種の microRNA を発現している細胞内でも高レベルの RECK タンパク質を合成誘導できる。また、この変異 <i>RECK</i> 遺伝子は、ヒト線維肉腫細胞株 HT1080 の浸潤活性を強く抑制し、ヒト大腸癌細胞株 SW620 の造腫瘍活性および転移能を強く阻害した。すなわち、microRNA による制御を回避するような <i>RECK</i> 遺伝子は、より強いがん抑制活性を示すことが分かった。 一方、ヌードマウスに生じた肺転移巣から回収した SW620 細胞亜株において、上皮間葉転換と <i>miR-372/373</i> の発現亢進が観察された。<i>miR-372/373</i> は1つ前駆体 RNA として転写されるが、その発現が TWIST1 による活性化を受けることが見出された。TWIST1 の発現は、低酸素で安定化する HIF1αによって促進されることが最近報告されている。これらの知見から予想される通り、低酸素下で培養した SW620 細胞において、HIF1αおよび TWIST1 の発現亢進と同期した RECK の発現低下が認められた。microRNA 標的配列を欠損した変異 RECK 遺伝子では、こうした発現低下は観察されなかった。さらに、<i>miR-21</i> の発現が RAS／MAPK 経路によって活性化されることも示唆された。 以上の結果より、低酸素と RAS シグナルは、microRNA を介して協調的に腫瘍抑制因子 RECK の発現低下をもたらし、悪性形質の発現に寄与するというモデルが考えられた。			

（論文審査の結果の要旨） 発生や病態に伴う細胞外マトリックス・リモデリングの重要な推進役として MMP ファミリーが知られている。膜アンカー型 MMP 制御因子 RECK は、多くのヒトがんで発現低下が見られ、強制発現実験では腫瘍血管新生、浸潤、転移の抑制が観察される。一方、近年、発がんへの microRNA の関与が次第に明らかにされ、その診断や治療への応用に関心が寄せられている。 申請者は、<i>RECK</i> 遺伝子の 3'非コード領域内に少なくとも3つの microRNA (<i>miR-15b/16</i>、<i>miR-21</i>、および <i>miR-372/373</i>) の標的配列候補が存在することを見出し、実験的にも RECK タンパク質の発現がこれらの配列を介して microRNA による制御を受けることを示した。これらの配列を欠く変異 <i>RECK</i> 遺伝子は、野生型よりも強いがん抑制および浸潤・転移抑制活性を示すことも見出された。また、<i>miR-372/373</i> の発現上昇には低酸素／HIF1α／TWIST1 経路が、<i>miR-21</i> の発現上昇には RAS／MAP キナーゼ経路が関わることを見出した。すなわち、低酸素と増殖因子シグナルは、microRNA を介して協調的に腫瘍抑制因子 RECK の発現低下をもたらし、悪性形質の発現に寄与するというモデルが考えられた。 以上の研究は、発がんに関わる microRNA の発現制御および作用機構の解明に貢献し、分子腫瘍学の発展に寄与するところが大きい。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22年2月17日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、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			