

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)	氏名	尾下 豪人
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
RASEF is a novel diagnostic biomarker and a therapeutic target for lung cancer (RASEF は肺癌の新たな診断マーカー及び治療標的である)			
論文審査担当者			
主 査	教授	武島 幸男	印
審査委員	教授	安井 弥	
審査委員	教授	檜山 英三	
〔論文審査の要旨〕			
<p>肺癌は癌死の原因の第1位を占めており、新たな早期診断や治療法を開発することが急務である。肺癌で高レベルに発現上昇する遺伝子を同定し、癌の進展における役割を解析することで、新たな分子標的治療薬、癌ワクチン、診断マーカーなどの開発が可能であると考えられる。著者らは肺癌臨床検体から Laser microbeam microdissection によって選択的に切り出した肺癌組織を使用して cDNA マクロアレイを行い、肺癌の遺伝子発現プロファイルを作成した。そのプロファイルをもとに、著者らは Ras and EF-hand domain containing (RASEF) が肺癌において高頻度・高レベルに発現しており、正常肺組織にはほとんど発現していないことを明らかにした。</p> <p>著者らは半定量的 RT-PCR を行い、RASEF が肺癌臨床検体および肺癌細胞株において高頻度・高レベルに発現しており、正常肺および正常気道上皮由来細胞株 BEAS-2B では発現していないことを確認した。また、multiple tissue northern blot によって正常臓器における RASEF の発現を検討し、前立腺と精巣以外の正常臓器には発現を認めないことを証明した。著者らは RASEF に対する特異的な抗体を用いて細胞免疫染色を行い、RASEF が細胞質に局在していることを明らかにした。また、発現ベクターを用いて RASEF を細胞株に強</p>			

制発現させたところ細胞の増殖が促進され、一方で si-RNA による RASEF の発現抑制は癌細胞の増殖を抑制したことから、RASEF が肺癌細胞の増殖に重要な働きをしていることを明らかにした。続いて著者らは 341 例の非小細胞肺癌患者の病理組織標本を用いて RASEF の組織免疫染色を行い、RASEF の発現と臨床病理学的因子との相関を調べたところ、RASEF の強発現は T 因子と有意に相関していた。また、RASEF 強発現症例は弱発現および発現なしの症例と比較して、術後の予後が有意に不良であった。多変量解析にて RASEF の強発現は非小細胞肺癌患者の独立した予後不良因子であった ($P = 0.0034$)。

さらに著者らは RASEF がどのような機序で肺癌の増殖に関与しているのか機能解析を行った。RASEF が属する Rab ファミリーのなかには MAPK 経路の活性調節に関与する分子が複数報告されていたため、RASEF の過剰発現あるいは発現抑制が MAPK 経路の主要分子 (c-Raf, MEK, ERK, RSK) の活性に影響しているかどうかを Western blot 法により検討した。その結果、RASEF の発現に伴って ERK1/2 のリン酸化ステータスに変化しており、ERK1/2 の上流分子では変化がなかった。この結果から RASEF が ERK1/2 の活性を促進的に調節していることが明らかとなった。また、RASEF の発現が MAPK 経路の下流で転写調節される遺伝子 (*Cyclin D1*, *Cyclin B1*, *CDKN1A*) の発現にも影響することも確認した。また、免疫沈降法により、RASEF が ERK1/2 と直接結合していることを確認した。RASEF の治療応用の可能性を探るため、著者らは RASEF の ERK1/2 結合領域を免疫沈降法によって同定し、同部位に対する細胞膜透過性ペプチドを設計した。この膜透過性ペプチドは RASEF 陽性肺癌細胞株において RASEF と ERK1/2 の結合を効果的に阻害し、また用量依存性に肺癌細胞の増殖を抑制することができた。一方で RASEF 陰性株においては増殖に影響しなかった。

以上の結果から、本論文は RASEF が肺癌の発生や進展に重要な役割を演じており、新たな予後予測因子及び治療標的分子として有望であることを明らかにした。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。