

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	MOHAMED NABIL BAKR ABDELRAHMAN
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>Functional analysis of pollutant nicotine-<i>CHRNA1</i> and identification of prognosis-related genes in melanoma using zebrafish and <i>in silico</i> approaches (ゼブラフィッシュとインシリコ系を用いた、メラノーマにおけるニコチン - ニコチン性アセチルコリン受容体A1の機能解析と予後関連遺伝子の同定)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	菊池 裕	
審査委員	教 授	荻野 肇 (両生類研究センター)	
審査委員	教 授	今村拓也	
審査委員	助 教	高橋治子	
〔論文審査の要旨〕			
<p>メラノーマは、メラノサイトの悪性化により生じる皮膚癌として知られている。皮膚癌に占めるメラノーマの割合は 5-10%程度と低いが、皮膚癌による死亡の約 75%をメラノーマが占めていると言われている。近年、薬物療法や免疫療法などの新しい治療法により、メラノーマ患者の生存率は向上している。しかし、治療抵抗性や疾患の再発は依然として大きな課題であり、特に転移性メラノーマの 5 年生存率は、わずか 30%に留まっているのが現状である。従って、新たに予後予測を可能にする指標を見つけることが重要であると考えられている。本論文において著者は、メラノーマ患者のトランスクリプトームデータと <i>in vivo</i> ゼブラフィッシュメラノーマ実験系を用いた解析により、メラノーマ予後関連遺伝子として、<i>Nicotinic Acetylcholine Receptor (CHRN)</i> の発現と遺伝子発現シグネチャーに関して解析を行った。</p> <p>最初に著者は、神経伝達物質とメラノーマとの関連に着目し、<i>CHRN</i>の発現とメラノーマの悪性化に関して解析を行った。その結果、筋肉型 <i>Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 1 Subunit (CHRNA1)</i> が、転移性メラノーマ患者、ゼブラフィッシュ浸潤性メラノーマ細胞、トランスフォーミング増殖因子 $\beta 1$ (TGF-$\beta 1$) で処理した転移性メラノーマ細胞株で高発現している事を明らかにした。更に、メラノーマ患者のバルク RNA-sequencing (バルク RNA-seq) データを用いたバイオインフォマティクス解析により、以下の 3 つの結果を見出した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 転移性メラノーマ試料において <i>CHRNA1</i> の発現は、同じ筋肉型 <i>CHRNB1</i> および <i>CHRNG</i> と有意に相関している事 ・ これら筋肉型 <i>CHRN (CHRNA1, CHRNB1, CHRNG)</i> の発現は、癌転移関連遺伝子である <i>ZEB1</i> や Rho/ROCK 経路関連遺伝子と相関している事 ・ <i>CHRNA1</i> の発現は、筋形成・筋収縮・細胞増殖に関連する遺伝子と相関している事 <p>また著者は、全生存期間分析により、<i>CHRNA1</i>、4 つの関連遺伝子 (<i>DES, CDK1, CDC20,</i></p>			

FLNC)、および筋形成遺伝子シグネチャーが、メラノーマ患者の予後に関与している事を明らかにした。バルク RNA-seq 解析に続き、シングルセル RNA-seq (scRNA-seq) 解析を行った結果、*CHRNA1* を発現する患者のメラノーマ細胞は、*CHRNBI*, *CHRNG*, 筋形成関連遺伝子の発現レベルが高い事が明らかにした。以上の結果は、メラノーマの進行に筋肉型 *CHRNA1* が関与している事を示唆しており、*CHRNA1* 発現と相関する遺伝子は、メラノーマの予後予測バイオマーカーとしての可能性がある事が示された。

更に著者は、遺伝子発現シグネチャー (GES) 分類と Cox 回帰分析により、メラノーマ細胞をシングルセルレベルにおいて生物学的な特徴付けを行い、メラノーマの予後関連遺伝子シグネチャーの探索を試みた。バルク RNA-seq と scRNA-seq の統合解析により、6 つの特徴的な GES (「抗アポトーシス」、「免疫細胞相互作用」、「メラニン形成」、「リボソーム生合成」、「細胞外構造形成」、「上皮間葉転換 (EMT)」) を、単一細胞レベルで明らかにした。「メラニン形成」、「リボソーム生合成」、「細胞外構造形成」の GES と「免疫細胞相互作用」の GES は、それぞれ予後不良および予後改善と関連していた。複数の独立したメラノーマデータセットを用いてリッジ Cox 回帰分析を行った結果、メラノーマ予後予測シグネチャー (MPS_45) を見出し、その検証を行った。MPS_45 は、リボソームおよび細胞周期関連遺伝子に富む 45 の遺伝子から構成されていた。この MPS_45 は、メラノーマ患者の生存期間と関連しており、メラノーマ患者の予後予測に対して、高いポテンシャルを持っている事を証明した。

本研究では、筋肉型 *CHRNA1* の発現がメラノーマの予後と関連している事を初めて明らかにした。更に、メラノーマ細胞をシングルセルレベルで GES 分類を行った結果、メラノーマの予後関連遺伝子シグネチャー (MPS_45) を見出す事に成功した。以上の結果は、メラノーマの予後予測に関して新たな知見を与えるものであることから高く評価できる。審査の結果、本論文の著者は博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

(1) Mohamed Nabil Bakr, Takahashi, H. and Kikuchi, Y. (2022).

Analysis of Melanoma Gene Expression Signatures at the Single-Cell Level Uncovers 45-Gene Signature Related to Prognosis.

Biomedicines 10(7): 1478.