

山下 淳二 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

悪性黒色腫における新規癌抗原 KIF20A 発現の検討と、miR-146a SNP の検討
(The analyses of KIF20A and miR-146a SNP in malignant melanoma)

悪性黒色腫に対するより効果的な免疫療法のために、新たな悪性黒色腫関連癌抗原の同定が望まれている。免疫療法のターゲットとして新規癌抗原 KIF20A が候補分子として報告されている。その治療ターゲットとしての有用性評価のために、悪性黒色腫における KIF20A の発現について検討した。また、miR-146a は様々な癌において腫瘍増殖に関わる microRNA の一つとされ、miR-146a の SNP は様々な腫瘍の病勢に関与すると報告されている。特に悪性腫瘍との関連が報告されている rs2910164 について、悪性黒色腫での意義について検討した。

本研究では、悪性黒色腫の細胞株を用いて mRNA、蛋白質レベルでの KIF20A の発現を検討した。また、患者組織を用いての免疫染色法、リアルタイム PCR 法により KIF20A の発現を検討し、臨床データと KIF20A 発現の関連を検討した。一方、miR-146a については、50 人の悪性黒色腫、107 人の正常組織から DNA を採取し、PCR 法を用いて miR-146a rs2910164 の遺伝子型を同定した。8 人の悪性黒色腫患者からは血液を採取し、腫瘍部と血液からの rs2910164 の遺伝子型を比較した。また、患者組織から microRNA を抽出し、miR-146a の相対発現量を比較した。さらに、悪性黒色腫細胞の増殖、遊走、浸潤アッセイを行い、rs2910164 の遺伝子型の生物学的活性との関係について検討した。

10 種類の悪性黒色腫細胞株を用いて行ったリアルタイム PCR 法では、すべての細胞株において KIF20A mRNA が高発現し、ウェスタンブロッティング法でも高発現を認めた。患者組織を用いた免疫染色法では、悪性黒色腫 51 例中 30 例 (59%)、転移巣 9 例中 6 例 (67%)、色素性母斑では 26 例中 3 例 (12%) が KIF20A 陽性であった。また PCR 法での検討では、悪性黒色腫 28 例中 18 例 (64%)、転移巣では 10 例中 8 例 (80%)、色素性母斑では 10 例中 6 例 (60%) で mRNA の発現を認め、リアルタイム PCR 法では色素性母斑と比較し、原発巣、転移巣のいずれも高発現を示した。臨床病理学的には、KIF20A 陽性群は tumor thickness が有意に大きく、また、再発しやすい傾向を認めた。次に、miR-146 rs2910164 については、悪性黒色腫 15 例 (30%) が CC、35 例 (70%) が CG で、GG は 0 例であったのに対し、正常組織では 51 例 (47.7%) が CC、53 例 (49.5%) が CG、3 例 (2.8%) が GG であった。悪性黒色腫の患者組織では、CG の割合が増加していたが、臨床データとの相関は認めなかった。また C allele と G allele の minimum free energy を比較したところ、C allele では -24.0 kcal/mol に対し、G allele では -26.8 kcal/mol であったことから、miR-146a では G allele の方が、安定性が増すと考えられた。悪性黒色腫細胞株での検討では、CG、GG allele の細胞株で、より強い増殖、遊走、浸潤能が示された。

以上、悪性黒色腫では KIF20A の mRNA、蛋白質の発現を認め、進行期においても発現が持続していた。KIF20A は cancer-testis 抗原の一種であり、今後、この分子をターゲットとした免疫療法が悪性黒色腫においても有効であると考えられた。また、miR-146a rs2910164 は、悪性黒色腫の腫瘍増殖能に関与している可能性があり、特に CG 遺伝子型では、悪性黒色腫が生じるリスクが上がる可能性が考えられた。

審査では、KIF20A について、1) 睾丸など正常組織と悪性黒色腫細胞での機能、2) 新規癌抗原として認知された経緯、3) 免疫染色法と PCR 法とで発現頻度の差が出た理由、4) 脈管侵襲との関連、5) 転移巣と原発巣での発現差、6) 癌免疫療法の確立機序、7) 免疫療法への今後の展望、また、miR-146 の SNP については、1) 標的分子、2) エピジェネティックスの関与、3) microRNA における SNP の意義、4) 他の癌での SNP との比較、5) 細胞増殖能への SNP の差異の関与機構、6) KIF20A との関連性、などについて質疑がなされ、申請者からは概ね的確な解答がなされた。

本研究は、高悪性度の腫瘍である悪性黒色腫における異なる新たな 2 種類の分子の意義について、臨床病理学的、細胞生物学的に検討することで、悪性黒色腫の特徴をより詳細に解析した研究であり、学位の授与に相応しい研究と評価された。

審査委員長 機能病理学担当教授

伊藤 隆 州