

令和 2年 9月

城所嘉輝 学位論文審査要旨

主 査 山 崎 章
副主査 梅 北 善 久
同 中 村 廣 繁

主論文

Gene expression profiling by targeted RNA sequencing in pathological stage I lung adenocarcinoma with a solid component

(充実型増殖を有する病理病期 I 期の肺腺癌におけるターゲットRNAシーケンスを用いた遺伝子発現解析)

(著者：城所嘉輝、坂部友彦、春木朋広、門永太一、野坂加苗、中村廣繁、梅北善久)

令和2年 Lung Cancer 147巻 56～63頁

参考論文

1. 反復性肺感染症を伴った成人期 Congenital Cystic Adenomatoid Malformation の1例と本邦13例のまとめ

(著者：城所嘉輝、藤原和歌子、窪内康晃、万木洋平、三和健、中村廣繁)

平成30年 日本呼吸器外科学会雑誌 32巻 111頁～116頁

学位論文要旨

Gene expression profiling by targeted RNA sequencing in pathological stage I lung adenocarcinoma with a solid component

(充実型増殖を有する病理病期 I 期の肺腺癌におけるターゲットRNAシーケンスを用いた遺伝子発現解析)

浸潤性肺腺癌は病理組織学的な構造上、置換型、腺房型、乳頭型、微小乳頭型、充実型の亜型に分類され、最も多い組織が優位亜型となる。特に充実性増殖優位型では、リンパ節転移等が多く予後不良とされ他と異なる微小環境を有する。一方で、充実型は優位亜型でなくとも腫瘍内に存在することで予後不良となる。近年、これらの亜型に注目した遺伝子解析の報告が散見されるが、いずれも症例毎での比較であり、同一組織内における亜型での比較はみられない。本研究では、充実型を、頻度の高い腺房型と比較することで、予後不良の原因となる特異的な遺伝子を検索することを目的とする。

方法

2014年1月から2017年12月までに鳥取大学医学部附属病院呼吸器外科で根治切除が施行された病理病期I期肺腺癌255例のうち、充実型および腺房型をともに腫瘍全体の10%以上を所有する8例を選択して対象とした。これらの充実型および腺房型をそれぞれレーザーマイクロダイセクションで組織採取後にtotal RNAを抽出した。次世代シーケンサーを用いて20,813の既知遺伝子の発現量を測定した。RNAの品質が維持されている6例を最終の対象として、充実型群と腺房型群とで二群間比較（ペアワイズ尤度比検定）を行い、発現変動遺伝子（Differentially expressed gene; DEG）を同定した。DEGのエンリッチメント解析およびタンパク質間相互作用解析（Protein-protein interaction; PPI）から、充実型に有意である遺伝子機能の評価を行った。新たに別の41例を対象にDEGがコードするタンパク発現を免疫組織化学染色にて検証した。

結果

1,272のDEGを同定した（false discovery rate; FDR<0.05）。このうち、充実型に発現上昇する遺伝子は677、発現低下する遺伝子は595であった。最も上昇している遺伝子はTATA binding protein associated factor 7（*TAF7*）で、最も低下している遺伝子はhomeobox B3

(*HOXB3*) であった。エンリッチメント解析では137のgene ontology termがアノテーションされ ($p < 0.05$)、 “mitotic nuclear division” , “DNA replication” などの細胞増殖に関わるものが多くみられた。PPIでは、ribosomal protein S27a (*RPS27a*) が最上位のハブ遺伝子であり、*RPS27a*を中心としたネットワークにおいて94のDEGがコードするタンパクの直接相互が示された。一方、programmed cell death ligand 1 (PDL1) として知られる*CD274*の発現上昇が認められ、*CD274*のサブネットワークではCKLF like MARVEL transmembrane domain containing 6 (*CMTM6*) の直接相互が認められた。PDL1、*HOXB3*での免疫組織化学染色では、それぞれ充実型、腺房型に有意に陽性であった ($p = 0.01$, $p = 0.007$)。

考 察

*TAF7*は、基本転写因子*TFIID* (transcription factor IID) の構成成分であり、転写開始のチェックポイントレギュレーターとして機能する転写因子である。乳癌では、*TAF7*を介してmiRNAであるmiR-374c-5pが癌遺伝子DEP domain-containing 1 (*DEPDC1*) を調節していることが報告されている。一方、*HOXB3*は癌転移抑制遺伝子として知られ、細胞増殖や転移、浸潤、上皮間葉転換などの抑制に関わる転写因子である。いずれの遺伝子も肺癌における機能は明確に判明していないが、本研究から充実型で予後不良の一因となっていることが考えられ、治療標的遺伝子としての可能性が示唆される。

最上位のハブ遺伝子であった*RPS27a*は、DNA損傷時のシグナル伝達物質としてp53の応答に作用して細胞周期の停止に関与する。PPIの結果、*RPS27a*が肺癌の治療標的として可能性を示されているproteasome subunit alpha type-6 (*PSMA6*) と直接関連していることは注目すべき結果であった。加えて、PDL1が充実型では遺伝子およびタンパクともに発現亢進しており、PDL1染色の組織不均一性が示されたことは現時点での臨床において重要な結果である。また、PDL1は*CMTM6*が直接作用することで発現が維持されることが報告されているが、本研究においてもその関連が示された。

結 論

肺腺癌の充実型では、多数の発現変動遺伝子が見られ、いくつかの転写因子が細胞増殖に関与している。すでに治療標的となっているPDL1以外にも、*TAF7*、*HOXB3*、*PSMA6*などの遺伝子は今後の治療標的としての可能性がある。