The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tumor-suppressive role of the musculoaponeurotic fibrosarcoma gene in colorectal cancer
Author(s)	板倉, 弘明
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92892
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	板倉　弘明
論文題名 Title	Tumor-suppressive role of the *musculoaponeurotic fibrosarcoma* gene in colorectal cancer （*musculoaponeurotic fibrosarcoma* geneは大腸癌において癌抑制的に働く）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

これまでに当教室は、microRNA (miR)-200c, 302s, 369sが大腸癌細胞株において、癌細胞のリプログラミングを誘導し、腫瘍増殖を抑制することを示してきた。本研究では、これら３種のmiRNAが大腸発癌を抑制するかどうかについて検討し、そのメカニズムを明らかとすることを目的とした。またマウス大腸組織のmicroarray 解析によって着目した転写因子*musculoaponeurotic fibrosarcoma* (MAF, c-maf) 遺伝子は、乳癌や多発性骨髄腫などで癌遺伝子として報告されているが、網膜・水晶体、ヘルパーT細胞等の細胞分化に関わること、神経鞘腫においては癌抑制的な働きも報告されているが、大腸での機能は明らかになっていない。本研究では、大腸癌におけるMAF遺伝子の機能について詳細に検討した。

〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕

① <u>自然発癌モデルマウスを用いたmicroRNAの腫瘍抑制効果の検証</u>

3種のmiR (miRs)を大腸癌自然発癌モデルマウスである*CPC ; Apc*マウスに投与すると腫瘍形成が抑制された。その大腸組織を用いてmicroarray解析を実施し、腫瘍組織で正常大腸組織よりも発現減少を示し、かつ miRs投与群の正常粘膜で発現増加を示した遺伝子の中でMAFに着目し、腫瘍形成抑制のメカニズムについて検討した。

② <u>大腸癌や種々の癌種におけるMAF遺伝子の発現評価</u>

Public databaseによる検索では、大腸癌ではMAF遺伝子のmRNAの発現は正常部と比較して腫瘍部で低下していたおり、他の複数の癌種においても肺がん、膵癌、前立腺癌をはじめとして腫瘍で発現低下を示すものが少なからず存在した。当院で手術を受けた大腸癌患者の切除検体(n=98)を用いた検索では、大腸の早期癌段階よりMAF発現の低下を認めた。進行癌ではMAF高発現群が全生存期間と無再発生存期間において有意に予後良好であった。MAFの転写因子として報告されているp53タンパクとの比較染色では、変異によって半減期が延長したp53発現とMAFの発現は逆相関を示した。

③ <u>*In Vitro*におけるMAF遺伝子の評価</u>

ラット正常腸管細胞株(IEC18)に対してMAFをノックダウンすると、細胞増殖能とコロニー形成能が亢進した。大腸癌細胞株(HCT116, LST174T)に対し、MAFを過剰発現させると細胞増殖能が低下した。HCT116ではMAFの過剰発現により5-FU に対する感受性が亢進し、アポトーシスが誘導された。HCT116の p53野生型株とnull変異株に対してMAFを過剰発現させたところ、MAF-p53 wild株では p53と$p21^{WAF1/CIP1}$ の発現が増加し細胞増殖能が低下したが、MAF-p53 null株で変化はみられなかった。HCT116 p53 null株を用いて変異 p53 (R175H, R248W)を強制発現させたところ、MAFタンパクの発現低下と共に miR-155の発現増加がみられた。MiR-155はMAFの3'-UTR領域に結合し、miR-155の添加によりMAFタンパク発現は低下した

④ <u>*In vivo*におけるMAF遺伝子の評価</u>

MAF KOマウスを作製し、AzoxymethaneとDextran sulfate sodiumを用いて化学発癌実験を行った（KOマウス19匹、野生型マウス13匹）。KOマウスでは腫瘍形成数、腫瘍サイズ共に有意に増大した。化学発癌させた正常部と腫瘍部をRNA-seqに提出し、Ingenuity Pathway Analysisを実施した。Ontology 解析の結果、KOマウスの正常部では、野生型と比較しcell cycle 経路が亢進し、upstream解析の結果、KOマウスの正常部、腫瘍部共に発癌・増殖に関わる転写因子やGrowth Factorの活性化がみられた。

〔総　括(Conclusion)〕

MiR-200c, 302s, 369sは大腸の腫瘍発生を抑制することが分かった。その一因としてMAF遺伝子が関与し、大腸癌では MAF遺伝子は癌抑制的に働くことが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）板倉　弘明

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	江口 英利
	副　査	大阪大学教授	谷内田 真一
	副　査	大阪大学特任教授	石井 啓始

論文審査の結果の要旨

先行研究においてmicroRNAが大腸癌細胞株において、癌細胞のリプログラミングを誘導し、腫瘍増殖を抑制することを示してきた。本論文では、これらのmiRNAが大腸発癌を抑制するかどうかについて検討し、そのメカニズムを明らかとすることを目的としている。またマウス大腸組織のmicroarray 解析によって着目した転写因子 *musculoaponeurotic fibrosarcoma* (MAF, c-maf) 遺伝子は、乳癌や多発性骨髄腫などで癌遺伝子として報告されているが、網膜・水晶体、ヘルパーT細胞等の細胞分化に関わること、神経鞘腫においては癌抑制的な働きも報告されているが、大腸での機能は明らかになっていない。本研究では、大腸癌におけるMAF遺伝子の機能について詳細に検討し、従来とは逆説的な仮説であるMAF遺伝子の腫瘍抑制能を示したことから博士（医学）の学位授与に値する。