

学 位 論 文 要 旨

氏 名

鼻山 到



論 文 題 目

**「Increased expression of REV7 in small cell lung carcinomas and
its association with tumor cell survival and proliferation.」**

(小細胞肺癌における REV7 の高発現と腫瘍細胞の生存・増殖への関与)

指 導 教 授 承 認 印

村雲 芳樹



Increased expression of REV7 in small cell lung carcinomas and its association with tumor cell survival and proliferation.

(小細胞肺癌における REV7 の高発現と腫瘍細胞の生存・増殖への関与)

氏名 眞山 到

[背景]

小細胞肺癌は、肺癌の約 15%を占めており、他の組織型の肺癌と比較して増殖が速く播種・転移しやすい癌であり、5 年生存率は 7%と予後不良な癌として知られている。小細胞肺癌の症例のほとんどは発見時に手術不能であり、化学療法および放射線療法の適応となる。小細胞肺癌は化学療法と放射線療法によく反応するが、ほとんどの症例は 2 年以内に再発し、化学療法抵抗性を獲得するため、有効な二次治療はほとんど無い。したがって、効果的な小細胞肺癌の新規標準治療を開発することは重要な課題である。

REV7 (MAD2L2 または MAD2B としても知られる) は、損傷乗り越え DNA 複製 (TLS)、細胞周期調節、遺伝子発現などに関与する多機能タンパク質である。特に、DNA 損傷を受けた細胞を死から救う働きがある TLS において重要な役割を果たしており、癌細胞における REV7 の発現は抗癌剤、放射線治療の感受性に影響を及ぼしていると考えられている。

REV7 は、正常組織では精巣の生殖細胞に強く発現しているが、さまざまな癌組織でも強い発現が認められる。REV7 の高発現は、多くの悪性腫瘍の予後不良と関連があることが報告されているが、肺癌における REV7 の発現はまだ研究されていない。

[目的]

今回我々は、臨床検体を用いた臨床病理学的解析と培養細胞を用いた検討により、小細胞肺癌における REV7 の発現意義を解明することを目的として研究を行った。

[対象・方法]

1999年から2017年の間に北里大学病院で治療を受けた患者から、それぞれ21症例の小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、神経内分泌大細胞肺癌の手術検体と100症例の小細胞肺癌の生検検体を用いた。REV7の免疫組織化学的染色の染色強度は、0 (陰性)、1 (弱い)、2 (強い) の3段階にスコアリングし、さらにREV7-low (強度スコア0および1) およびREV7-high (強度スコア2) の2つのカテゴリーに分類した。

小細胞肺癌、巨細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌の細胞株のウェスタンブロッティングを行い REV7 の発現を比較し、siRNAを用いてREV7をノックダウンした小細胞肺癌細胞株を作成し、細胞増殖の評価を行った。

[結果]

肺癌における REV7 発現の意義を検討するために、まず様々な肺癌組織の REV7 発現を手術検体を用いた免疫組織化学的染色にて検討した。その結果、小細胞肺癌は 21 症例すべてが REV7 陽性であり、REV7 の染色強度は、肺腺癌、肺扁平上皮癌、神経内分泌大細胞肺癌と比較して小細胞肺

癌にて有意に高かった。これは REV7 が特に小細胞肺癌にて高発現していることを示しており、その後の研究にて小細胞肺癌における REV7 の重要性を明らかにすることにした。

小細胞肺癌の REV7 の臨床病理学的重要性の評価ため、REV7 発現と病期分類および予後を含む臨床病理学的因子との関連を、手術された 21 症例と生検された 100 症例において分析した。その結果、手術症例では REV7 の発現と臨床病理学的因子との間に有意な関連は確認できなかった。生検症例では、REV7-low 群は遠隔転移および病期の進展型(extensive stage)と有意な関連を示したが、T、N 因子は REV7-high 群で高い傾向を示した。REV7 の発現と化学放射線療法の効果および 2 年生存率に対する有意な相関は認めなかった。REV7-high 群は REV7-low 群と比較して予後不良の傾向を示したが、全生存期間に有意差は認めなかった。

また、手術検体および生検検体で測定された細胞増殖能のマーカーである Ki-67 Labeling Index は、REV7-low 群よりも REV7-high 群にて有意に高かった。この結果により、REV7 の発現が小細胞肺癌の増殖に関与していることが示唆された。

次に、小細胞肺癌細胞株と他の組織型の肺癌細胞株での REV7 の発現をウェスタンブロッティングにて調べた。その結果、全ての小細胞肺癌細胞株にて他の肺癌細胞株より REV7 が高発現していることが明らかになった。

さらに、REV7 をノックダウンした小細胞肺癌細胞を作成し細胞増殖を検討した結果、REV7 ノックダウン細胞はコントロール細胞と比較して細胞増殖能が有意に低かった。また、REV7 ノックダウン細胞は抗 cleaved PARP 抗体に対して強い免疫反応性を示し、REV7 ノックダウンによりアポトーシスが誘導された。これらの結果から、REV7 は小細胞肺癌の生存と増殖に関与しており、REV7 の不活化により小細胞肺癌の増殖を抑制できる可能性が示唆された。

[考察]

本研究にて、REV7 が他の組織型の肺癌と比較して小細胞肺癌にて顕著に高発現していること、REV7 発現は小細胞肺癌の増殖と相関することが明らかになった。今回の解析では、REV7 発現と遠隔転移および病期の進展型との間に負の相関を認めたが、さらに症例数を増やして解析する必要がある。REV7 発現と予後との間には有意な相関は認めなかった。小細胞肺癌の細胞株でも REV7 の高発現を認め、REV7 のノックダウンによりアポトーシスの活性化と細胞増殖の抑制が誘導された。以上から、REV7 の発現が小細胞肺癌の細胞の生存と増殖にプラスの影響を及ぼし、遠隔転移にマイナスの影響を与える可能性がある。

TLS を介した DNA 損傷耐性は癌細胞の生存に影響を与える。REV7 が関与する TLS は、DNA 損傷によって引き起こされる細胞死から細胞を保護し、シスプラチン処理による損傷からの保護にも役割を果たす。いくつかの研究では、REV7 の不活性化が様々な癌細胞のシスプラチン感受性増加と相関することが示されている。最近の研究において、REV7 と REV1 の相互作用を阻害する小分子阻害剤 JH-RE-06 が、培養細胞におけるシスプラチン感受性の増加に有効であることが報告されている。以上から、REV7 を標的とすることによる TLS の阻害は、小細胞肺癌の治療戦略にとって有効なものとなる可能性がある。

結論として、本研究により REV7 が小細胞肺癌で高発現し、腫瘍細胞の増殖に関与していることが明らかになり、小細胞肺癌治療の新規分子標的として REV7 が有用である可能性が示唆された。