

(書式12)

| | |
|---------|------------------------------------|
| 氏名 | しょうじ わたる 庄子 渉 |
| 学位の種類 | 博士(医学) |
| 学位授与年月日 | 平成27年3月25日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項 |
| 研究科専攻 | 東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学 専攻 |
| 学位論文題目 | NCYMはMyc-nick産生を促進しG2/M期での細胞死を抑制する |
| 論文審査委員 | 主査 教授 仁尾 正記 教授 中山 啓子 教授 森 隆弘 |

論文内容要旨

神経芽腫は小児の固形腫瘍で、発症の年齢によりその予後は大きく異なる。初診時1歳以上で神経芽腫と診断された患児は高リスク群とされ予後不良で、がん遺伝子*MYCN*が増幅した症例が多い。*NCYM*は*MYCN*のアンチセンス転写産物として同定され、神経芽腫において*MYCN*と100%共通して増幅し、過剰発現することが報告された。*MYCN*が細胞周期においてG1期からS期への移行を促進する一方で、細胞周期制御における*NCYM*の役割はわかっていない。最近Myc familyであるMYCおよび*MYCN*がCa²⁺依存性プロテアーゼであるカルパインによりC末端が切断され、機能タンパク質Myc-nickが産生されることが報告された。このMyc-nickはアセチルトランスフェラーゼであるGCN5を介してα-チューブリンをアセチル化する。増加したアセチル化α-チューブリンは、細胞遊走能および微小管重合阻害剤ノコダゾールなどに対する薬剤耐性に関わる。しかし、神経芽腫でのMyc-nickの生成を促進する因子および悪性化への寄与は明らかではなかった。そこで、本研究では細胞周期制御における*NCYM*の役割を調べるとともに、Myc-nick産生機構およびその悪性化への寄与を明らかにすることを目的とした。

細胞周期における*NCYM*、Myc-nickのタンパク発現量を調べるために、神経芽腫細胞株、CHP134および子宮頸癌細胞株、HeLa細胞をダブルチミジンブロックにて同調したところ、G2/M期に*NCYM*、Myc-nickのタンパク量は最大となり、アセチル化α-チューブリンが増加した。細胞内でのMyc-nick

(書式12)

産生量が NCYM の影響をうけるかどうか検討するために、CHP134 を用いて *NCYM* をノックダウン、または過剰発現したところ、Myc-nick の産生量はそれぞれ減少、増加していた。また、*in vitro* において NCYM はカルパインの作用を介して Myc-nick 産生を増加させ、MYCN とカルパインの結合を増強した。さらに、*MYCN/NCYM* トランスジェニックマウス由来の腫瘍を用いた実験では、MYCN トランスジェニックマウス由来の腫瘍と比較して、Myc-nick 産生量が増加し、アセチル化 α -チューブリン産生増加を伴っていた。次に、*NCYM* をノックダウンした CHP134 細胞をダブルチミジンブロックにて同調したところ、G2/M 期で α -チューブリンのアセチル化は減少し、さらにアポトーシスが増加していた。

これらの結果は、神経芽腫において NCYM がカルパインを介した Myc-nick 産生を促進し、G2/M 期におけるアポトーシスを抑制することで、MYC あるいは MYCN 増幅腫瘍の悪性化に寄与することを示唆している。

審査結果の要旨

博士論文題目 NCYM は Myc-nick 産生を促進し G2/M 期での細胞死を抑制する

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 小児外科学分野

氏名 庄子 渉

神経芽腫は、一般的に予後が不良な代表的な小児固形腫瘍であるが、発症年齢によりその予後が大きく異なることが知られている。初診時に 1 歳以上で診断された例の予後はとくに不良で、高リスク群として扱われるが、このような例にはがん遺伝子 MYCN が増幅した症例が多いことが経験されてきた。

MYCN を巡ってはこれまでも多くの研究が行われ、NCYM が MYCN のアンチセンス転写産物として同定され、神経芽腫において MYCN と 100% 共通して増幅し、過剰発現することが報告されている。MYCN が細胞周期において G1 期から S 期への移行を促進する一方で、細胞周期制御における NCYM の役割はこれまで明らかでなかった。また最近、Myc family である MYC および MYCN が Ca²⁺依存性プロテアーゼであるカルパインにより C 末端が切断され、機能タンパク質 Myc-nick が産生され、この Myc-nick はアセチル化 α -チューブリンの増加を介して、細胞遊走能および微小管重合阻害剤ノコダゾールなどに対する薬剤耐性に関わることが報告されたが、神経芽腫での Myc-nick の生成を促進する因子および悪性化への寄与も明らかではなかった。

このような背景の中で、本研究は細胞周期制御における NCYM の役割を調べるとともに、Myc-nick 産生機構およびその悪性化への寄与を明らかにした。

本研究において、細胞周期における NCYM、Myc-nick のタンパク発現量を調べるために、神経芽腫細胞株、CHP134 および子宮頸癌細胞株、HeLa 細胞をダブルチミジンプロックにて同調したところ、G2/M 期に NCYM、Myc-nick のタンパク量は最大となり、アセチル化 α -チューブリンが増加した。また、細胞内での Myc-nick 産生量が NCYM の影響をうけるかどうか検討するために、CHP134 を用いて NCYM をノックダウン、または過剰発現したところ、Myc-nick の産生量はそれぞれ減少、増加していた。さらに、in vitro において NCYM はカルパインの作用を介して Myc-nick 産生を増加させ、MYCN とカルパインの結合を増強し、MYCN/NCYM トランスジェニックマウス由来の腫瘍を用いた実験では、MYCN トランスジェニックマウス由来の腫瘍と比較して、Myc-nick 産生量が増加し、アセチル化 α -チューブリン産生増加を伴っているという結果を得た。次に、NCYM をノックダウンした CHP134 細胞をダブルチミジンプロックにて同調したところ、G2/M 期で α -チューブリンのアセチル化は減少し、さらにアポトーシスが増加していたことを確認した。

これらの結果は、神経芽腫において NCYM がカルパインを介した Myc-nick 産生を促進し、G2/M 期におけるアポトーシスを抑制することで、MYC あるいは MYCN 増幅腫瘍の悪性化に寄与することを示唆している。

以上、本研究で、神経芽腫において MYCN の増幅が生物学的悪性度を高めるメカニズムについて、NCYM と Myc-nick 産生機構の両面から詳細な検討が行われ、今後の治療上きわめて重要な治験が得られていることから、本研究が学位論文としてふさわしいものと認めるものである。