

論文の内容の要旨

氏名：渡 邊 揚 介

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト神経芽腫細胞株における *Zygote Arrest 1* 遺伝子の機能解析

背景

神経芽腫（以下、本症）は神経堤細胞を起源とする悪性固形腫瘍であり、副腎髄質や傍脊椎交感神経節から多く発生する胎児性腫瘍である。これまで著者の所属する研究グループでは、皮膚腫瘍モデルマウスにおける腫瘍特異的 DNA メチル化変化領域を網羅的に解析し、そのヒト相同領域についてヒト神経芽腫臨床検体を用いた検討を行い、新規予後因子としての可能性を検索してきた。このうち、*Zygote Arrest 1* (*ZAR1*) exon1 上の CpG island の DNA 高メチル化状態は、有意に本症の予後不良と関連し、*MYCN* 増幅など既存の予後規定因子の予後不良例でも高メチル化状態であることを発見した。また、public database では *ZAR1* の高発現が予後不良と関連することが報告されている。本来胎生初期の細胞にのみ発現する遺伝子である *ZAR1* が、胎児性腫瘍とされる本症において予後不良群で高発現するという結果は、*ZAR1* が本症の発生・増殖や分化に関与している可能性を強く示唆している。本研究では、ヒト神経芽腫細胞株を用いて *ZAR1* の本症における役割を解析した。

対象と方法

MYCN 増幅ヒト神経芽腫細胞株 NB1 を用いて *ZAR1* の発現を強制的に抑制または過剰発現させ、各細胞に対して、機能解析として細胞形態、細胞増殖能、細胞遊走能、細胞浸潤能の変化について検討した。*ZAR1* 強制安定発現株では足場非依存性増殖能の変化についても検討した。また、遺伝子間相互作用が存在する可能性が考えられる *ZAR1* および *MYCN* について、それぞれ発現抑制した際の各遺伝子の発現変化を解析するとともに、*ZAR1* 強制安定発現株でも *MYCN* の発現変化を解析した。

結果・考察

各 control 群と比較して、神経突起長、細胞浸潤能、*MYCN* 発現量は、*ZAR1* の発現状態に応じて有意な変化を示した。神経突起伸長は *ZAR1* の発現抑制により亢進し、過剰発現により抑制された。細胞浸潤能は *ZAR1* の発現抑制により低下し、過剰発現により上昇した。神経突起伸長は神経細胞において分化を意味することから、この結果は *ZAR1* がヒト神経芽腫において分化抑制に関わっている可能性を示唆する。また、細胞浸潤能は転移に必須の機能であり、悪性腫瘍の進展に深く関わる。以上より *ZAR1* はヒト神経芽腫において、腫瘍促進的に機能する可能性が考えられた。しかしその一方で、足場非依存性細胞増殖能は、*ZAR1* 強制発現により低下した。このことから、*ZAR1* には腫瘍抑制的に機能する側面も考えられた。*ZAR1* と *MYCN* の相互作用については、*ZAR1* の発現により *MYCN* の発現上昇を認めた。また、*MYCN* に対し発現抑制を行った際には、*ZAR1* の発現が上昇した。*MYCN* は本症において様々な腫瘍促進的機能を果たす転写因子であることから、*ZAR1* を制御した際の表現型は *MYCN* の発現制御を介したメカニズムにより生じている可能性が考えられた。詳細な機構を解明するには今後の解析が必要である。