

# 学位論文抄録

悪性黒色腫における新規癌抗原 KIF20A 発現の検討と、miR-146a  
SNP の検討  
(The analyses of KIF20A and miR-146a SNP in malignant melanoma)

山下 淳二

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚機能病態学

指導教員

尹 浩信 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚病態治療再建学

## 学位論文抄録

[目的]近年、悪性黒色腫に対する免疫療法が有効であるとの報告がなされている。悪性黒色腫に対する免疫療法をより効果的なものとするために、新たな悪性黒色腫関連癌抗原の同定が望まれている。悪性黒色腫同様、予後不良な膵臓癌においては新規癌抗原 KIF20A が同定され、免疫療法のターゲットとなりうるということが報告された。今回の研究では悪性黒色腫での KIF20A の発現について検討した。また、miR-146a は様々な癌において腫瘍増殖に関わる microRNA の一つとされ、miR-146a の SNP は様々な疾患の病勢に関与するとの報告がなされている。特に様々な悪性腫瘍との関連が報告されている rs2910164 について調べ、臨床データを含め検討を行った。

[方法]悪性黒色腫の細胞株を用いて mRNA、蛋白質レベルでの KIF20A の発現を検討した。また患者組織を用いて免疫染色、リアルタイム PCR 法を用いて KIF20A の発現を検討し、臨床データと KIF20A の発現を検討した。また 50 人の悪性黒色腫、107 人の正常組織から DNA を採取し、PCR 法を用いて miR-146a rs2910164 の遺伝子型を同定した。8 人の悪性黒色腫患者からは血液を採取し、腫瘍部と血液からの rs2910164 の遺伝子型を比較した。また患者組織から miRNA を抽出し、miR-146a の相対発現量を比較した。次に、悪性黒色腫細胞株から DNA を採取し、増殖、遊走、浸潤アッセイを行った。

[結果]10 種類の悪性黒色腫細胞株を用いて行ったリアルタイム PCR ではすべての細胞株において KIF20A mRNA が高発現し、ウェスタンブロッティング法でも高発現を認めた。患者組織を用いた免疫染色では悪性黒色腫 51 例中 30 例(59%)、転移巣 9 例中 6 例(67%)、色素性母斑では 26 例中 3 例(12%)が KIF20A 陽性であった。また PCR 法での検討では悪性黒色腫 28 例中 18 例(64%)、転移巣では 10 例中 8 例(80%)、色素性母斑では 10 例中 6 例(60%)で mRNA の発現を認め、リアルタイム PCR では色素性母斑と比較し、原発巣、転移巣のいずれも高発現を示した。臨床データとの比較では KIF20A 陽性群は tumor thickness が有意差をもって大きく、無再発生存期間の比較では陽性群の方が再発しやすい傾向を認めた。miR-146 rs2910164 の検討では悪性黒色腫 15 例(30%)が CC、35 例が CG(70%)で GG は 0 例であったのに対し、正常組織では 51 例(47.7%)が CC、53 例が CG、3 例が(2.8%)であった。悪性黒色腫の患者組織では、CG の割合が増加していたが、臨床データとの相関は認めなかった。また C allele と G allele の minimum free energy を比較したところ、C allele では -24.0kcal/mol に対し、G allele では -26.8kcal/mol であったことから、miR-146a では G allele の方が、安定性が増すと考えられた。悪性黒色腫細胞株を用いた増殖、遊走、浸潤アッセイでは CG、GG allele の細胞株でより大きな増殖、遊走、浸潤能を示した。

[結論]悪性黒色腫では KIF20A の mRNA、蛋白質の発現を認め、進行期においても発現の消失は認めなかった。今後、KIF20A をターゲットとした免疫療法が悪性黒色腫においても有効である可能性がある。また miR-146a rs2910164 は悪性黒色腫の腫瘍増殖能に関与している可能性があり、CG 遺伝子型であった場合、悪性黒色腫が生じるリスクが高くなる可能性があると考えられた。