

審査の結果の要旨

氏名 春原光宏

本研究は肺がんにおけるチロシンキナーゼの新規変異を発見するため、肺がん手術検体からRT-PCR法、RACE法を用いて、過剰発現症例の新たな変異を検討したものであり、以下の結果を得ている。

1. RET-proto oncogeneにおいて、過剰発現症例のRACE法をおこなうことで、複数のsplicing variantの発現を確認した。これらは、本来のRET proto-oncogeneの細胞外ドメインが一部欠落するものの、細胞外移行シグナルや膜貫通ドメイン、チロシンリン酸化活性を有する細胞内ドメインは保たれていた。
2. 今回発見されたsplicing variantをHEK 293t細胞株に過剰発現させ、リン酸化抗体を用いたWestern blot法によるアッセイを行ったところ、これらsplicing variantにリン酸化能がみられることが確認された。また、RET-proto oncogeneに対する低分子チロシンキナーゼ阻害薬であるVandetanibにより、先述のsplicing variantを過剰発現させたHEK 293t細胞株のリン酸化が阻害されることが確認された。
3. 肺がん細胞株においてRET-proto oncogeneの過剰発現を検討したところ、約30%に過剰発現が認められ、EGFR変異陽性と正の相関がみられた。EGFR変異陽性群においてはRET過剰発現がoverall survivalを有意に悪化させることが示された。
4. RACE法にて得られた5'端と3'端を結合し、cDNA全長を得る際に、プライマーを用いないポリメラーゼ反応が有用であることを発見し、これについて詳細に検討した。プライマーはおかずに伸長時間をcDNA全長ではなく、5'端ないしは3'端に相当する時間とすること、またオーバーラップは20塩基程度で十分であることが示された。

以上、本論文は肺がんにおけるRET-proto oncogeneのsplicing variantの発見と過剰発現が予後予測因子となることを示したものである。今後の肺がんにおけるRET-proto oncogeneの意義の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。