

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	家里 明日美
論文審査担当者	主査 塩沢 丹里 副査 宮川 眞一 ・ 中山 淳
論文題目 PATZ1 knockdown enhances malignant phenotype in thyroid epithelial follicular cells and thyroid cancer cells (PATZ1 をノックダウンすると甲状腺濾胞上皮細胞および甲状腺癌細胞の悪性形質が増強される)	
<p>【はじめに】甲状腺濾胞上皮細胞由来の癌は、緩徐に進行する分化癌が、より悪性度の高い低分化癌、未分化癌へと進行していくことが知られているが、この変化の機序は十分には解明されていない。我々は、同一症例の甲状腺癌臨床検体中の分化癌と未分化癌成分の遺伝子発現をマイクロアレイ法を用いて比較し、未分化転化の過程で発現が大きく変動する遺伝子として転写調節因子 PATZ1 (POZ (BTB) and AT hook containing zinc finger 1, ZNF278)を見出した。PATZ1 は癌化に促進的に働くという報告と、p53 と相互に作用して癌抑制遺伝子として機能するという報告があり、甲状腺癌では癌の進行に抑制的に働くことが報告されている。今回、甲状腺濾胞上皮細胞からの発癌や、甲状腺癌の悪性度の進行に PATZ1 がどのように関与するか解析した。</p> <p>【対象と方法】当科で甲状腺の手術を施行した 82 症例・160 検体を用いて。PATZ1 発現を免疫染色で評価した。核が陽性の細胞の割合 30%以上を陽性とした。<i>in vitro</i> では不死化正常甲状腺濾胞上皮細胞株 (Nthy-ori 3-1)、分化癌細胞株(TPC-1, FTC-133)、未分化癌細胞株(ACT-1, FRO)を用いて、siRNA による PATZ1 の抑制、または PATZ1 遺伝子導入により PATZ1 を強制発現させた際の、増殖・遊走・浸潤能や、遊走・浸潤に関わる uPA や MMP2, MMP9, MMP11 の発現を解析した。さらに臨床検体で、uPA, MMP2, MMP9, p53 の発現を免疫染色で評価し、PATZ1 との相関を解析した。</p> <p>【結果】臨床検体の免疫染色では、PATZ1 の核発現は非癌部甲状腺組織と腺腫様甲状腺腫で全例陽性であり、濾胞腺腫(80%)、乳頭癌(89.7%)、濾胞癌(62.5%)でも高い陽性率であったが、低分化癌(58.3%)、未分化癌(10.7%)と、分化度の低下に伴い PATZ1 の核発現の低下が認められ、未分化癌では非癌部甲状腺組織、分化癌、低分化癌のそれぞれと比較して、いずれも有意に PATZ1 発現が低下していた。</p> <p><i>in vitro</i> で用いる細胞株の PATZ1 発現を蛍光抗体法で解析すると、Nthy-ori 3-1 では核に強い発現を認め、TPC-1, FTC-133 では核発現は減弱し、ACT-1, FRO では極めて弱い発現が認められ、臨床甲状腺癌と同じ傾向が認められた。uPA の発現は甲状腺癌細胞 4 株で Nthy-ori 3-1 より強く、MMP2, MMP9, MMP11 は、いずれも ACT-1 において最も強い発現を認めた。Nthy-ori 3-1, TPC-1, ACT-1 は野生型 p53, FTC-133 は変異 p53 を有し、FRO は p53 を発現していないと報告されているが、Western blot (WB)と蛍光抗体法では、FTC-133 で p53 の強い発現、ACT-1 では弱い発現を認め、TPC-1, FRO では発現を認めず、報告と一致する結果であった。SV40 により不死化された Nthy-ori 3-1 では p53 の強い発現を認めた。次に、Nthy-ori 3-1 で PATZ1 を抑制すると、細胞の形態変化と増殖・遊走・浸潤能の増加が認められた。WB では、uPA や MMPs の発現上昇が、さらにザイモグラフィでは、uPA, MMP2, MMP9 の活性上昇が認められた。続いて、TPC-1, FTC-133 で PATZ1 を抑制すると、増殖・遊走・浸潤能の増加が認められ、uPA や MMPs の発現上昇が認められた。さらに、ACT-1, FRO で PATZ1 を強制発現させると、増殖・遊走・浸潤能の低下と、uPA, MMPs の発現低下が認められた。さらに臨床検体の免疫染色では、uPA, MMP2, MMP9 は脱分化の進行とともに陽性症例の割合が高くなり、uPA, MMP2, MMP9 発現はいずれも PATZ1 発現と負の相関が認められた。また p53 status に関わらず、PATZ1 の発現は脱分化の進行とともに低下しており、PATZ1 の腫瘍抑制作用は p53 には依存しないと考えられた。</p> <p>【結論】甲状腺濾胞上皮細胞の癌化と甲状腺癌の脱分化の進行の両方に、PATZ1 が抑制因子として機能しており、PATZ1 による uPA や MMPs の制御が腫瘍促進に関与していると考えられる。</p>	