

（様式4）

学位論文の内容の要旨

（ 大串 健二郎 ） 印

（学位論文のタイトル）

High tumoral STMN1 expression is associated with malignant potential and poor prognosis in patients with neuroblastoma

（和訳：神経芽腫患者においてSTMN1高発現は悪性度と予後不良に関連する）

（学位論文の要旨）2,000字程度、A4判

【背景と目的】神経芽腫は脳腫瘍を除く、小児固形悪性腫瘍で最も高頻度に認められる。予後は多様であるものの、月齢、病理、MYCN遺伝子増幅などを予後因子として、高リスク群に分類される神経芽腫患者の予後は集学的治療にもかかわらず、依然として不良である。難治性の神経芽腫患者の予後を改善するためには、新しいバイオマーカーや治療標的の研究開発が必要である。Stathmin1 (STMN1)は、未成熟な神経細胞や腫瘍のマーカーであり、チューブリンを不安定化させることにより微小管ダイナミクスを制御している。このタンパク質は癌の増殖、進行に重要な役割を果たしており、多くの癌において高発現が癌進行、予後不良と関連していた。しかし、MYCN増幅が悪性度や難治性に関連する神経芽腫におけるSTMN1発現の臨床的意義や機能については十分に検討されていない。本研究の目的は、神経芽腫におけるSTMN1の発現意義と機能を明らかにすることである。

【方法】群馬大学医学部附属病院、群馬県立小児医療センターで切除手術（1991年-2020年）を受けた102症例の神経芽腫検体のうち、術前化学療法を受けていない81検体のSTMN1発現を免疫染色法で評価し、その発現と臨床病理学的因子、予後との関係を解析した。神経芽腫細胞株3種（SK-N-AS：MYCN非増幅株、NB69：MYCN非増幅株、LAN-5：MYCN増幅株）のSTMN1をsiRNAにより抑制し、STMN1発現と細胞生存、MYCN発現との関連を評価した。また、MYCN非増幅株である神経芽腫細胞株2種（SK-N-AS、NB69）に対してレンチウイルスベクターを用いてMYCNを外因性に過剰発現させたMYCN過剰発現株2種（SK-N-AS MYCN OE、NB69 MYCN OE）を作成し、同様の実験を行った。

【結果】

神経芽腫の腫瘍切片では、STMN1は神経芽細胞の細胞質および細神経線維に均一に発現していた。神経芽腫81検体のうち62例（77%）が低STMN1発現群、19例（23%）が高STMN1発現群に分類された。STMN1の高発現は、全症例（n = 81）およびMYCN非増幅症例（n = 69）では悪性度の進行、予後不良と有意に関連していた。MYCN増幅症例（n = 8）ではSTMN1発現は悪性度、予後との有意な関連を示さなかった。

神経芽腫81症例の単変量解析(hazard ratio = 6.439, 95%CI = 1.882- 22.03, p = 0.003)、多変量解析(hazard ratio = 16.95, 95%CI = 1.567- 183.4, p = 0.019)により、STMN1発現が全生存期間の独立した予後因子であることが示された。

MYCN非増幅株2種（SK-N-AS、NB69）、MYCN増幅株1種（LAN-5）、レンチウイルスベクターによるMYCN過剰増幅株2種（SK-N-AS MYCN OE、NB69 MYCN OE）の5種全ての細胞株でSTMN1抑制により有意に増殖能は低下した。また、MYCN発現の内因性、外因性に関わらず、STMN1抑制神経芽腫細胞株のMYCN発現は抑制された。

【考察】本研究では、STMN1発現は、神経芽腫患者において悪性度および予後不良と関連しており、独立した予後因子であった。我々の神経芽腫81症例と公開データベースの神経芽腫大規模コホートにおける解析を行うことでMYCN増幅の有無にかかわらず、神経芽腫におけるSTMN1の高発現は、統計学的に有意に予後不良であり、STMN1が神経芽腫において有望な腫瘍マーカーになる可能性を示した。

STMN1抑制が、MYCN非増幅だけでなく、内因性および外因性のMYCNが過剰発現している神経芽腫細胞においても、STMN1の抑制が細胞生存能を阻害することが示された。これらのデータは、MYCNの増幅の有無にかかわらず、難治性神経芽腫におけるSTMN1の重要性を強く示している。STMN1の機能はAKTによって活性化され、細胞周期を制御するPI3K/AKTシグナル伝達経路の活性化マーカーになる可能性があるという報告、STMN1抑制はがん細胞におけるAKTの活性を抑制するという報告、また高悪性度の神経内分泌前立腺癌ではMYCNが過剰発現しており、AKT阻害によりMYCNタンパク質を不安定化させる可能性があるという報告などから、STMN1抑制による抗腫瘍効果の主なメカニズムは微小管ダイナミクス機能障害に基づく細胞周期の調節障害であるという仮説が立てられた。

AKT/MYCN軸のダウンレギュレーションを介したSTMN1を標的とした治療戦略が難治性の神経芽腫に対する新たなアプローチとなりうると考えられた。

また、STMN1抑制が神経芽腫細胞株における内因性および外因性のMYCN発現を抑制することを示した。MYCNは、神経芽腫患者の悪性度や予後不良に強く関連する重要な因子である。STMN1を抑制するとMYCNの発現量が低下することから、STMN1はMYCNの新たな上流因子である可能性が示された。

**【結論】** 本研究は神経芽腫におけるSTMN1発現を免疫染色法で評価することにより、予後不良の神経芽腫患者を予測できる可能性を示した最初の報告である。神経芽腫におけるSTMN1発現評価は新規予後マーカーとして期待される。また、STMN1はMYCN増幅を伴う高悪性度の神経芽腫に対する治療標的分子の候補として有望であることが示唆された。