

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

大高 行博 印

(学位論文のタイトル)

**STXBP4 drives tumor growth and is associated with poor prognosis through PDGF Receptor signaling in lung squamous cell carcinoma**

(STXBP4は肺扁平上皮癌においてPDGF受容体シグナルを介して腫瘍増殖をもたらす予後不良と関連する)

(学位論文の要旨)

Syntaxin結合蛋白4 (STXBP4) は、病理診断マーカーであり肺扁平上皮癌に高発現する $\Delta$ Np63と直接結合し、そのユビキチン化による分解を抑制する機能を有している。このことは、STXBP4が肺扁平上皮癌において重要な役割を果たしている可能性を示唆する。本研究では、未だ明らかにされていない肺扁平上皮癌におけるSTXBP4発現の臨床的意義とその機能的役割について検討した。

まず、外科的切除を受けた肺扁平上皮癌87例について、STXBP4および $\Delta$ Np63の腫瘍内発現を免疫組織化学的に検討し、臨床病理学的背景因子との関連性解析を行った。するとSTXBP4と $\Delta$ Np63の発現には弱い正の相関性が認められ(順位相関分析 $\rho = 0.219$ ,  $P < 0.05$ )、STXBP4の高発現は腫瘍因子 (pT factor,  $P < 0.001$ )、病期 ( $P < 0.05$ )、胸膜浸潤 ( $P < 0.05$ ) と有意に関連していた。さらにSTXBP4高発現群 ( $n = 52$ ) では、全生存期間および無増悪生存期間の双方において低発現群 ( $n = 35$ ) に比べ有意に予後不良であり(Log-rank検定、各々 $P < 0.01$ )、 $\Delta$ Np63の発現レベルによらず予後との関連を示した。これら初期検討の結果から、STXBP4が肺扁平上皮癌において $\Delta$ Np63非依存的経路により腫瘍形成的に働く可能性が考えられた。

そこでSTXBP4の機能を調べるため、次世代シーエンサーIon Protonを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。肺扁平上皮癌の腫瘍検体からtotal RNAを抽出し、そのグレードをもとに、免疫染色による評価でSTXBP4が高発現の6例と低発現の6例を選択し、RNA-seqにより発現変動を示した172遺伝子を抽出した ( $P < 0.05$ , false-discovery rate (FDR)  $< 0.5$ )。このうち、STXBP4の高発現と極めて強い関連性を示す遺伝子としてPDGFRAを同定した ( $P = 5.66e^{-6}$ , FDR = 0.0633)。両者の発現についてreal time RT-qPCRによる発現量の検証 ( $n = 52$ ) を行ったところ、STXBP4高発現群ではPDGFRAの有意な上昇が確認された。さらにこの結果をThe Cancer Genome Atlasに登録されているデータをもとに追加解析したところ、同様にSTXBP4高発現群では有意にPDGFRAの上昇が示された ( $n = 488$ ,  $P < 0.05$ )。これらの検証結果から、STXBP4のもつ腫瘍形成性にはPDGFRAの上昇が関与する可能性が高いと考えられた。

さらに細胞実験では、STXBP4発現に伴いPDGFRAは増加し、さらにそのリン酸化レベルも上昇した。一方、STXBP4の抑制によりPDGFRAは抑制され、細胞のコロニー形成や動物モデルにおける腫瘍形成能はいずれも低下した。これらの結果から、STXBP4高発現に伴うPDGFRAシグナルの活性化が肺扁平上皮癌の腫瘍増殖を加速させ、患者予後不良に繋がると考えられた。