

博士課程用 (甲)

学位論文の内容の要旨

氏名 原 圭吾 印

(学位論文のタイトル)

Significance and function of microRNA-7 in oesophageal squamous cell carcinoma.

(食道扁平上皮癌におけるmicroRNA-7の意義と機能)

(学位論文の要旨)

(背景と目的)

進行食道扁平上皮癌 (ESCC) 患者の生存率は、周術期管理の改善や確立された補助療法があるにも関わらず、依然として不良である。食道扁平上皮癌患者の生存率を改善するためには、癌の進行度および予後を正確かつ確実に予測できるマーカーが必要である。

microRNA (miR)は、遺伝子発現の重要な調節因子として近年注目され、多くのmiRは、癌細胞における増殖、アポトーシス、分化、進展において重要な役割を果たしている。我々はESCCにおけるマイクロアレイデータベースを再分析した結果、正常食道粘膜と比較してESCCにおいて高発現するmiR-196a、miR-7、およびmiR-503を検出した。この中で、miR-196aおよびmiR-503は既にESCCにおける機能、発現の意義が報告されているが、miR-7に関してはほとんど研究がなされていない。

本研究の目的はESCCにおけるmiR-7発現の臨床病理学的意義を明らかにし、in vitroにおいてESCC細胞におけるmiR-7の機能を調べる事である。

(対象と方法)

1999年から2006年までに当科にて根治切除がなされたESCC症例の85例を対象とし、切除検体の癌部と非癌部よりRNAを抽出した。TaqMan PCR法にてmiR-7の発現量を測定し、臨床病理学的因子、予後との関連を解析した。

ESCC cell lineであるTE-8を用い、premiR-7 precursorをelectroporatorにてトランスフェクションし、miR-7高発現の細胞株を樹立した。miR-7高発現細胞株とコントロールにおける増殖能をWST-8 assayにて測定した。

(結果)

miR-7発現量は、癌部(T)が非癌部(N)に対して有意に高いことが分かった ($p < 0.001$)。T/N比を算出しカットオフ値を8.5に設定し、miR-7高発現群($n=31$)と低発現群($n=54$)の2群に分けたところ、2群間に臨床病理学的因子での有意差は認めなかったものの、全生存曲線を比較すると低発現群で有意に予後不良であった ($p=0.048$)。また単変量および多変量解析において、ESCCにおけるmiR-7低発現は、有意な独立した予後因子であることが判明した。

miR-7 precursorを導入した細胞株において、コントロール細胞株と比較して有意に増殖能が低下していた ($p < 0.05$)。

(考察)

本研究では、ESCCにおけるmiR-7低発現レベルが、臨床病理学的因子との関連がないにも関わらず、独立した予後不良因子であることを明らかにした。また、miR-7発現レベルが正常組織と比較して癌部において高いことを示した。これらのことは以前の大腸癌における報告と合致している一方、甲状腺癌や中皮腫ではmiR-7発現のダウンレギュレーションが報告されている。ESCCにおけるmiR-7調節の詳細なメカニズムは不明であるが、以前の報告から、E2F転写因子やEGFRのような癌特異的なシグナルの活性化によって調節されている可能性が示唆される。

これまでに、miR-7が化学療法抵抗性の癌細胞において抑制されること、miR-7によってEGFRやAkt発現を抑制し放射線治療に対する感受性を増加させることが報告されている。本研究では、*in vitro*の解析で、miR-7 precursor処理したESCC細胞がコントロールと比較して増殖能が減少することを示した。この知見は、ESCC細胞においてmiR-7が抗癌効果を誘導し、有用な治療手段となりうる事を示唆している。高レベルの血清中miR-7が、ESCC患者の化学放射線療法に対する高い感受性と関連していることが報告されており、miR-7の血清中への投与が化学放射線療法の増感剤として機能し得ると考えるが、miRを癌組織へ輸送させる有効な手段を模索する事が重要な課題となる。

（結論）

本研究において、miR-7低発現がESCCの予後不良および増殖能に関連していることを示した。ESCCにおけるmiR-7発現は、臨床病理学的因子とは無関係な、強力な予後因子であり得る。また、miR-7を調節することが、ESCCにおける新規の有望な標的治療となる可能性がある。