

論文内容要旨

論文題目

歯肉癌患者血漿を用いた網羅的解析により発見した miR-223 の機能解析と臨床的有用性の検討

責任講座： 内科学第一講座

氏 名： 橘 寛彦

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】日本では人口の高齢化に伴って口腔癌罹患患者数と死亡者数が増加しつつあり、口腔癌の発癌の分子機構の解明による新たな診断・治療法の開発が強く望まれている。近年、タンパク質へ翻訳されない非コード RNA の一種である microRNA(miRNA)は、細胞の増殖やアポトーシスなどとの関係が徐々に明らかになりつつある。特に癌との関連においては、癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子のように働く miRNA の存在が次々と報告され、microRNA の発現異常を検出することで、癌の診断、治療に関する重要な情報が得られるとの期待が高まっている。【目的】本研究の目的は、1) 口腔癌患者の血漿で高く発現する miRNA を同定する。2) 同定した miRNA の機能解析し、標的遺伝子を特定する。以上により miRNA の臨床応用の可能性を検討することである。【方法】1) 歯肉癌患者 (症例群) 5 名と年齢、性をマッチさせた非癌患者 (対照群) 10 名の血漿から small RNA を抽出し、新たに開発された超高感度 DNA チップ 3D-Gene® (TORAY) を用いて miRNA の網羅的解析を行う。また、その発現プロファイルの比較や臨床検証によって口腔癌の発癌や進展に関与する miRNA を同定する。2) 口腔癌細胞株を用いて miRNA の遺伝子導入によって癌細胞の増殖、アポトーシス、浸潤に及ぼす影響を検討する。次いで、ウェスタンブロット法によりその miRNA の標的遺伝子を同定する。【結果】1) 血漿中 miRNA の発現プロファイルによって、1211 個中 16 個の miRNA の発現が対照群より 2 倍以上高かった。この中から miR-223 と miR-21 を候補 miRNA として選択し、新たな検体において検証実験を行った。結果、miR-223 は症例群の方が約 2 倍高い値 (症例群の中央値 74.44 vs. 対照群の中央値 36.35) を示した ($p=0.16$)。miR-21 は対照群の方が高い値を示した。したがって、miR-223 を候補 miRNA とした。2) miR-223 の由来を検討するため癌組織と口腔癌細胞株の miR-223 の発現量を比較したところ、癌組織、口腔癌細胞株のいずれも miR-223 の発現は低い傾向を示した。miR-223 を口腔癌細胞株に強制導入し機能解析を行った結果、細胞増殖は著しく抑制され、アポトーシスも誘導されていた。浸潤能については変化を認めなかった。また、データベースおよびウェスタンブロット法の検討から miR-223 の標的遺伝子が stathmin であることが明らかとなった。【結論】血漿の網羅的解析により miR-223 は歯肉癌と密接に関連する miRNA であることを発見できた。その機能は癌抑制遺伝子として歯肉癌細胞の増殖能やアポトーシスに影響することが判明した。これらにより、miR-223 は口腔癌治療におけるバイオマーカーや分子標的薬としての臨床応用の可能性があることが示唆された。

平成 25 年 1 月 21 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：橘 寛彦

論文題目：歯肉癌患者血漿を用いた網羅的解析により発見した miR-223 の機能解析
と臨床的有用性の検討

審査委員：主審査委員

飯野 光吾

副審査委員

一瀬 白彦

副審査委員

柴田 陽光



審査終了日：平成 25 年 1 月 15 日

【 論文審査結果要旨 】

近年、癌遺伝子あるいは癌抑制遺伝子のように働く microRNA (miRNA) の存在が次々と報告され、miRNA の発現異常を検出することで、癌の診断、治療に関する重要な情報が得られるとの期待が高まっている。また、これまでの miRNA の解析は癌組織や培養細胞株を対象としていたが、超高感度 miRNA チップの開発により、血漿における高精度の miRNA の網羅的解析が可能になった。本研究の目的は、口腔癌（歯肉扁平上皮癌）患者の血漿で高く発現する miRNA を同定し、同定した miRNA の機能解析し標的遺伝子を特定することである。

本研究では、1) 口腔癌（歯肉扁平上皮癌）患者の血漿では、対象群と比較して miR-223 が約 2 倍高く発現していること、2) 癌組織とその周囲組織の miR-223 の発現比較では、周囲組織の方が 2.5~12 倍高く、また、口腔癌細胞株と良性腫瘍における miRNA 発現の比較では、良性腫瘍の方が 1900~15000 倍高いこと、3) miR-223 を口腔癌細胞株に強制導入すると、細胞増殖は著しく抑制されアポトーシスも誘導されること、4) データベースおよびウェスタンブロット法の検討から miR-223 の標的遺伝子は癌遺伝子のひとつである stathmin であることが明らかにされた。

以上の結果は、miR-223 は歯肉扁平上皮癌と密接に関連する miRNA であり、その機能は癌抑制遺伝子として歯肉癌細胞の増殖能やアポトーシスに影響することを示している。本研究は歯肉癌と miR-223 の関連をはじめて明らかにした研究であるとともに、mi-223 が癌抑制遺伝子の働きを有することを明示した数少ない報告のひとつである。よって本審査委員会では、全員一致して、博士（医学）論文にふさわしいものと判断し合格とした。