

# 論文内容要旨

## 論文題目

miR-101 regulates enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), a negative prognostic factor in renal cell carcinoma

(miR-101によって調節される EZH2 は、腎細胞癌の予後不良因子である)

責任講座： 腎泌尿器外科学講座

氏名：                     櫻井 俊彦                    

【内容要旨】(1,200 字以内)

背景： enhancer of zeste homolog 2(EZH2)は、polycomb repressive complex 2(PRC2)のサブユニットの一つであり、主にヒストン H3K27 のメチル化をすることで遺伝子発現を silencing している。また、EZH2 はさまざまな癌種（前立腺癌、乳癌、膵臓癌など）において発現の上昇が認められ、過去に腎癌でも発現上昇が報告されている。また、EZH2 は様々なマイクロ RNA (miR) で調節されていることが報告されており、miR-101 もその一つであるが、現時点で腎癌における報告例はない。今回我々は、腎癌の細胞株や臨床検体を用いて、EZH2 発現上昇の臨床的意義を検討し、miR-101 が EZH2 の発現に与える影響について検討した。

方法と対象：2003～2008 年の間に当科で摘出された腎癌の臨床検体 110 例（100 例は摘出時に遠隔転移なし）を用いて免疫組織染色を行い、臨床的検討を行った。生存分析は Kaplan-Meier 法、ログランク検定を用いて評価した。RT-PCR を用いて腎癌細胞株や組織にお

ける miR-101 の発現の状態を確認した。RNAi やウエスタンブロット法を用いて siEZH2 や pre-miR-101 を導入した場合の EZH2 やヒストンの状態などを確認した。

結果：腎癌細胞株 8 株すべてにおいて、EZH2 の発現は核に局限して上昇していた。臨床検体 110 例を抗 EZH2 抗体を用いて免疫組織染色した結果、98 例で腫瘍細胞核内に EZH2 の発現を認め、そのうち 48 例では 50%以上の強い発現を有した。fuhrman grade (核異型度) や pT stage が高くなれば EZH2 の発現が高い傾向にあった (フィッシャー直接確率法 fuhrman grade :  $p < 0.001$ )。摘出時に遠隔転移のなかった 100 症例における検討では、高発現群 (46 例) とそれ以外の低発現群 (54 例) では無再発生存期間・全生存期間はともに有意に高発現群で短かった (中央値は算出不能、log-rank test :  $p = 0.023$ ,  $p = 0.036$ )。また miR-101 の発現は、腎癌細胞株 8 株すべてで正常腎と比して低下していた。さらに臨床検体では、15/52 例で miR-101 の発現低下を認めた。miR101 発現低下群で、EZH2 が高発現の傾向にあった (有意差認めず)。また、ACHN、Caki1 細胞株において、pre-miR101 を導入して miR-101 を強制発現することにより EZH2 の発現の低下が認められた。

結論：腎癌においても EZH2 の発現上昇が認められ、特に高発現している症例においては低発現に比して予後不良因子であることが確認された。また腎癌において miR-101 が EZH2 の発現を抑制することで、癌抑制に働いている可能性が示唆された。

平成 24 年 1 月 12 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： 櫻井 俊彦

論文題目： miR-101 regulates enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), a negative prognostic factor in renal cell carcinoma (miR-101 によって調節される EZH2 は、腎細胞癌の予後不良因子である)

審査委員： 主審査委員 木村 理 (木村)  
副審査委員 富田 善彦 (富田)  
副審査委員 浅尾 裕信 (浅尾)

審査終了日：平成 24 年 1 月 4 日

### 【 論文審査結果要旨 】

背景：enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) は、polycomb repressive complex 2 (PRC2) のサブユニットの一つであり、主にヒストン H3K27 のメチル化をすることで遺伝子発現を silencing している。また、EZH2 はさまざまな癌種（前立腺癌、乳癌、膵臓癌など）において発現の上昇が認められ、過去に腎癌でも発現上昇が報告されている。また、EZH2 は様々なマイクロ RNA (miR) で調節されていることが報告されており、miR-101 もその一つであるが、現時点で腎癌における報告例はない。今回我々は、腎癌の細胞株や臨床検体を用いて、EZH2 発現上昇の臨床的意義を検討し、miR-101 が EZH2 の発現に与える影響について検討した。

方法と対象：2003～2008 年の間に当科で摘出された腎癌の臨床検体 110 例（100 例は摘出時に遠隔転移なし）を用いて免疫組織染色を行い、臨床的検討を行った。生存分析は Kaplan-Meier 法、ログランク検定を用いて評価した。RT-PCR を用いて腎癌細胞株や組織における miR-101 の発現の状態を確認した。RNAi やウエスタンブロット法を用いて siEZH2 や pre-miR-101 を導入した場合の EZH2 やヒストンの状態などを確認した。結果：腎癌細胞株 8 株すべてにおいて、EZH2 の発現は核に限局して上昇していた。臨床検体 110 例を抗 EZH2 抗体を用いて免疫組織染色した結果、98 例で腫瘍細胞核内に EZH2 の発現を認め、そのうち 48 例では 50%以上の強い発現を有した。fuhrman grade（核異型度）や pT stage が高くなれば EZH2 の発現が高い傾向にあった（フィッシャー直接確率法 fuhrman grade :  $p < 0.001$ ）。摘出時に遠隔転移のなかった 100 症例における検討では、高発現群（46 例）とそれ以外の低発現群（54 例）では無再発生存期間・全生存期間はともに有意に高発現群で短かった（中央値は算出不能、log-rank test :  $p = 0.023$ ,  $p = 0.036$ ）。また miR-101 の発現は、腎癌細胞株 8 株すべてで正常腎と比して低下していた。さらに臨床検体では、15/52 例で miR-101 の発現低下を認めた。miR101 発現低下群で、EZH2 が高発現の傾向にあった（有意差認めず）。また、ACHN、Caki1 細胞株において、pre-miR101 を導入して miR-101 を強制発現することにより EZH2 の発現の低下が認められた。結論：腎癌においても EZH2 の発現上昇が認められ、特に高発現している症例においては低発現に比して予後不良因子であることが確認された。また腎癌において miR-101 が EZH2 の発現を抑制することで、癌抑制に働いている可能性が示唆された。本論文は 1. p27 についての結果と知見, 2. 転移なかった 10 例の ZNNH2 が 20%の染色率であったこと, 3. 創薬につながる展望, を加えれば博士の学位を授与するに値するものと判定した

(1, 200 字以内)