

論文内容要旨

論文題目

口腔癌の新たな診断・治療体系の開発を目指した miR-223 に関する研究

責任講座： 歯科口腔・形成外科学講座

氏名： 吉田 雪絵

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【目的】 MicroRNA (マイクロ RNA ; 以下 miRNA) はタンパク質をコードしないノンコーディング RNA であり、塩基配列相補性を示す mRNA を標的としてがんの発生や進展に関わっていることが明らかとなり大変注目されている。我々のこれまでの研究で、歯肉癌患者の血漿中 miR-223 が非癌患者と比較して高値であったこと、また歯肉癌細胞株 Ca9-22 を用いた miR-223 の機能解析で、癌細胞の増殖が抑制され、アポトーシスが誘導されることが明らかとなり、口腔癌において miR-223 が癌抑制遺伝子として機能することを示され、口腔がんを克服するための極めて有望な分子標的となりうることが示唆された。そこで、本研究の目的は、(1) 口腔癌の中で罹患率の高い舌癌の患者の血漿中 miR-223 の量を測定し、舌癌の診断マーカーとなりうる可能性を検討する、(2) *in vitro* で miR-223 が血管新生や癌代謝に及ぼす影響について検討する、(3) マウスモデルを用いて、miR-223 による歯肉癌細胞の増殖抑制効果を評価し、新たな治療薬の候補となりうるか検討することである。**【方法】** (1) 未治療の舌癌患者 29 名 (男性 19 名、女性 10 名) と、性別・年齢をマッチさせた非癌患者 29 名を対象とし、血漿中 miR-223 濃度をリアルタイム PCR 法で測定した。(2) ヒト血管内皮細胞株 HUVEC と歯肉癌細胞株 Ca9-22 に miR-223 をトランスフェクションさせ、血管新生や癌代謝に及ぼす影響について検討した。また、(3) ノードマウスに Ca9-22 細胞を移植し、腫瘍の大きさが 100 mm³ に達した後に miR-223 を週 1 回腫瘍周囲に投与し、腫瘍サイズを経時的に測定した。また、腫瘍組織、肝、肺、腋窩リンパ節を病理組織学的に観察し、腫瘍の転移の有無と血管新生について検討を行った。**【結果】** 舌癌患者の血漿中 miR-223 の濃度は、非癌患者と比較して約 3 倍高かった ($p < 0.05$)。しかし、ROC 曲線解析では、感度 48.3%、特異度 82.8%であった。血管新生においては、HUVEC 細胞に miR-223 をトランスフェクションさせたところ、有意にメッシュの数の減少やメッシュ全体の面積の縮小が見られ ($p < 0.05$)、マトリゲル上のネットワーク形成が抑制されていた。また、癌代謝においては、miR-223 群で S-アデノシルメチオニン (SAM) が有意に増加しており ($p < 0.05$)、核酸の構成成分であるプリンヌクレオシドは増加傾向にあった。動物モデルを用いた実験では、miR-223 群で miR-223 投与 5 週目から対照群との腫瘍サイズに差が出始め、有意に腫瘍増大が抑制されていた ($p < 0.05$)。**【考察】** 舌癌患者の血漿中 miR-223 の濃度は、非癌患者と比較して有意に高かったが、感度が低く、miR-223 単独で舌癌において早期診断マーカーとなりうるのは難しいのではないかと考えられた。今後他の miRNA との組み合わせも検討する必要があると考えられる。また、*in vitro* での機能として、血管新生抑制と癌代謝の変化が示され、miR-223 の癌抑制遺伝子としての機能が示された。*in vivo* でも、miR-223 群では経時的な腫瘍増大抑制が認められ、癌抑制遺伝子として機能することが明らかとなり、口腔癌の新たな分子標的治療薬になる可能性が示唆された。

平成 29年 1月 20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：吉田 雪絵

論文題目：口腔癌の新たな診断・治療体系の開発を目指した miR-223 に関する研究

審査委員：主審査委員 欠畑 誠治



副審査委員 鈴木 民夫



副審査委員 浅尾 裕信



審査終了日：平成 29年 1月 17日

【 論文審査結果要旨 】

MicroRNA(マイクロ RNA ; 以下 miRNA)はタンパク質をコードしないノンコーディング RNA であり、塩基配列相補性を示す mRNA を標的としてがんの発生や進展に関わっていることが明らかとなり大変注目されている。これまでの研究で、口腔癌において miR-223 が癌抑制遺伝子として機能することが示され、口腔癌を克服するための極めて有望な分子標的となりうることが示唆された。本研究では(1)口腔癌の中で罹患率の高い舌癌の患者の血漿中 miR-223 の量を測定し、舌癌の診断マーカーとなりうる可能性を検討する、(2) *in vitro* で miR-223 が血管新生や癌代謝に及ぼす影響について検討する、(3) マウスモデルを用いて、miR-223 による歯肉癌細胞の増殖抑制効果を評価し、新たな治療薬の候補となりうるか検討を行った。(1) 未治療の舌癌患者 29 名(男性 19 名、女性 10 名)と、性別・年齢をマッチさせた非癌患者 29 名を対象とし、血漿中 miR-223 濃度をリアルタイム PCR 法で測定した。(2) ヒト血管内皮細胞株 HUVEC と歯肉癌細胞株 Ca9-22 に miR-223 をトランスフェクションさせ、血管新生や癌代謝に及ぼす影響について検討した。また、(3) ノードマウスに Ca9-22 細胞を移植し、腫瘍の大きさが 100 mm³ に達した後に miR-223 を週 1 回腫瘍周囲に投与し、腫瘍サイズを経時的に測定した。また、腫瘍組織、肝、肺、腋窩リンパ節を病理組織学的に観察し、腫瘍の転移の有無と血管新生について検討を行った。舌癌患者の血漿中 miR-223 の濃度は、非癌患者と比較して約 3 倍高かった ($p < 0.05$)。しかし、ROC 曲線解析では、感度 0.483、特異度 0.828 であった。血管新生においては、HUVEC 細胞に miR-223 をトランスフェクションさせたところ、有意にメッシュの数の減少やメッシュ全体の面積の縮小が見られ ($p < 0.05$)、マトリゲル上のネットワーク形成が抑制されていた。また、癌代謝においては、核酸の構成成分であるグアニンやグアノシン、アデノシンなどのプリンヌクレオシドと SAM が miR-223 群で有意に増加していた。動物モデルを用いた実験では、miR-223 群で miR-223 投与 5 週目から対照群との腫瘍サイズに差が出始め、有意に腫瘍増大が抑制されていた ($p < 0.05$)。舌癌患者の血漿中 miR-223 の濃度は、非癌患者と比較して有意に高かったが、感度、特異度が低く、miR-223 単独で舌癌においてバイオマーカーとなりうるのは難しいのではないかと考えられた。今後他の miRNA との組み合わせも検討する必要があると考えられた。また、*in vitro* での機能として、血管新生抑制と癌代謝の変化が示され、miR-223 の癌抑制遺伝子としての機能が示された。*in vivo* でも、miR-223 群では経時的な腫瘍増大抑制が認められ、癌抑制遺伝子として機能することが明らかとなり、口腔癌の新たな分子標的治療薬になる可能性が示唆された。

本審査委員会では、検定方法について一部論文を修正する必要があるが、口腔癌において miR-223 が癌抑制遺伝子として *in vitro* と *in vivo* で機能していることが示された点は新規であり、本研究が学位修得に十分に値すると判断した。

(1, 200 字以内)