

学位論文抄録

食道扁平上皮癌における microRNA の発現・機能解析
ならびに標的遺伝子の同定

(Analysis of expression and function of microRNA and identification of target genes
in esophageal squamous cell carcinoma)

日吉 幸晴

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻消化器外科学

指導教員

馬場 秀夫 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻消化器外科学

学位論文抄録

【目的】 MicroRNAs (miRNAs) は約 22 塩基からなる、自分自身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、標的遺伝子の発現を翻訳レベルで抑制する。また、miRNA の異常発現は癌を含む様々な疾患と関連することが報告されている。本研究は、(a) 食道扁平上皮癌に特異的に発現する miRNA を同定してその機能を解析すること、(b) miRNA の標的遺伝子を同定し、その制御メカニズムを解明することを目的とする。

【方法】 食道扁平上皮癌 20 症例の正常上皮と腫瘍組織、また、7 種類の食道癌細胞株 (TE6, TE8, TE10, TE11, TE12, TE14, KYSE30) から RNA を抽出し、TaqMan 法による real-time PCR で 5 種類の miRNA を定量した。miRNA の機能を解析するため、食道癌細胞株に anti-miRNA-inhibitor をトランスフェクトし、増殖能ならびに浸潤能を解析した。さらに、miRNA による標的遺伝子の制御機構を明らかにするため、anti-miRNA-inhibitor を用いて標的遺伝子の発現の変化を解析するとともに、標的遺伝子の mRNA 3'-非翻訳領域を導入したルシフェラーゼベクターを用いた reporter assay を行った。

【結果】 対象 20 症例中 18 症例において、正常上皮と比較して癌組織で microRNA-21 (miR-21) が高発現していた。特にリンパ節転移陽性例、または静脈侵襲陽性例では有意に発現が高かった。また、7 種類の食道癌細胞株はいずれも miR-21 が高発現していた。Anti-miR-21-inhibitor をトランスフェクトして miR-21 の発現を抑制した細胞は、増殖能ならびに浸潤能が有意に抑制された。食道癌細胞株における Programmed Cell Death 4 (PDCD4) 蛋白の発現と miR-21 の発現は有意に逆相関していた。Anti-miR-21-inhibitor をトランスフェクトした細胞株では、PDCD4 の mRNA は変化しなかったが、蛋白レベルでは PDCD4 の発現が有意に増加した。また、PDCD4 mRNA の 3'-非翻訳領域を導入したルシフェラーゼベクターを用いた reporter assay では、anti-miR-21-inhibitor によってルシフェラーゼ活性が有意に増加した。食道扁平上皮癌 120 例で PDCD4 の免疫染色を行うと、正常上皮と比較して食道扁平上皮癌では PDCD4 発現が減弱しており、PDCD4 陰性例は陽性例よりも進行症例が多く、予後不良であった。

【結論】 miR-21 は PDCD4 などの癌抑制遺伝子を翻訳レベルで抑制して食道扁平上皮癌の増殖、浸潤を制御していると考えられた。miR-21 が食道扁平上皮癌治療における新たなターゲットとなる可能性がある。