

日吉 幸晴 氏の在学期間短縮に関わる学位論文審査の要旨

論文題目

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)

MicroRNAs (miRNAs) は 20~25 塩基からなる、蛋白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 の発現異常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、1) 食道扁平上皮癌に高発現する miRNA を同定して、その機能を解析すること、2) miRNA の標的遺伝子を同定し、その癌化との関連を解明することを目的として行われた。

このために、TaqMan 法による real-time PCR を用いて、5 種類の癌関連 miRNA を定量したところ、対象 20 症例中の 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 miR-21 の発現が増強しており、7 種類の食道癌細胞株のすべてが miR-21 を高発現していた。さらに、miR-21 の機能を解析するために、食道癌細胞株に Anti-miR-21-inhibitor をトランスフェクトして miR-21 の発現を抑制したところ、細胞の増殖能ならびに浸潤能が有意に抑制された。また食道癌細胞株における Programmed Cell Death 4 (PDCD4) 蛋白質の発現と、miR-21 の発現は有意に逆相関していた。さらに、Anti-miR-21-inhibitor をトランスフェクトした食道癌細胞株では、PDCD4 の mRNA は変化しなかったが、蛋白質レベルでは 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レポーターアッセイでは、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 の免疫染色を行ったところ、正常上皮と比較して食道扁平上皮癌では PDCD4 の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。

以上より miR-21 は、癌抑制遺伝子 PDCD4 の発現を翻訳レベルで抑制し、食道扁平上皮癌の増殖と浸潤を制御することにより、癌の予後に影響を及ぼしていると考えられるとともに、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示唆された。

審査では、1) 5 種類の miRNA を解析対象とした理由、2) 癌細胞で miR-21 が高発現する機序、3) miR-21 と、これを内包するコーディング遺伝子の発現様式の相違、4) 癌組織における miR-21 の発現解析に用いたプローブの作用機序と特異性、5) 3 種類の miR-21 標的遺伝子を選択した理由、6) 癌組織における miR-21 高発現、PDCD4 低発現および予後との関連を示す観察の有無、7) 血清中の miR-21 の性状と腫瘍マーカーとしての意義、8) 癌の増殖に抑制的に働く miRNA の有無、9) miRNA の分解調節機構、10) miRNA を標的とする癌治療法の特徴と戦略、11) miRNA の正常細胞における機能、などについての質疑がなされ、申請者よりの確かな回答がなされた。

本研究は、食道扁平上皮癌において発現が増強している miR-21 が、癌抑制遺伝子の一つである PDCD4 遺伝子の発現を翻訳レベルで抑制することにより、癌細胞の増殖および浸潤を促進し、予後不良因子となっていることを示したものである。本研究は、食道癌の病因解明、予後予測マーカーの提供、ならびに治療に応用できる可能性を秘めた新たな標的分子の開拓に、優れた成果をもたらしたものであり、在学期間の短縮を伴う学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 免疫識別学担当教授

西村 泰治

在学期間短縮審査結果報告書

学位申請者名： 日吉 幸晴

専攻分野： 消化器外科学

学位論文名：

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)

指導： 馬場 秀夫 教授

書類審査の結果：

可

不可

学位論文審査の観点と評価：

① 成果の意義	(5 ・ ④ ・ 3 ・ 2 ・ 1)
② 発表能力	(⑤ ・ 4 ・ 3 ・ 2 ・ 1)
③ 専門分野の知識と思考力	(5 ・ ④ ・ 3 ・ 2 ・ 1)
④ 研究における主体性	(5 ・ ④ ・ 3 ・ 2 ・ 1)
⑤ 論文執筆の主体性	(5 ・ ④ ・ 3 ・ 2 ・ 1)

※[5段階評価の分類] 5：非常に優れている 4：優れている 3：平均的である 2：やや劣っている 1：非常に劣っている

判定結果：

可

不可

平成 21年 7月 6日

審査委員長 免疫識別学担当教授

西村 泰治

審査委員 病態情報解析学担当教授

安東 由喜雄

審査委員 分子遺伝学担当教授

尾池 雄一