

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	内藤 寛
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>MicroRNA-143 regulates collagen type III expression in stromal fibroblasts of scirrhous type gastric cancer.  (スキルス胃癌の間質の線維芽細胞において MicroRNA-143 は collagen type III の発現を制御する)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 檜 山 英 三 印</p> <p>審査委員 教 授 有 廣 光 司</p> <p>審査委員 講 師 田 邊 和 照</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>胃癌の罹患はその約 6 割をアジアの国で占めており、本邦においても頻度の高い悪性腫瘍である。特に、スキルス胃癌は極めて進行が早く、発見時に臨床病期が進行している症例が多いこと、高頻度に腹膜播種転移を生じることから、5 年生存率は他の胃癌と比較しても著しく低い。したがって、スキルス胃癌における分子基盤をより詳細に解析し、新たな治療・診断法の確立が急務である。一方、microRNA (miRNA) は 18~25 塩基長程度の小さな機能性 non-coding RNA の一種であり、標的遺伝子 mRNA の 3' 非翻訳領域に直接結合して翻訳を抑制することで、様々な生命現象に関与している。miRNA の機能異常が癌を含む様々な疾患で報告されており、miRNA をベースとしたがんの新規診断、治療法の開発が注目されているが、スキルス胃癌における miRNA の報告はほとんどない。そこで本研究では、スキルス胃癌における miRNA の発現、特徴的 miRNA の抽出および機能解析を行った。</p> <p>スキルス胃癌を含む 20 例の胃癌組織サンプルを材料に、Microarray による網羅的な miRNA 発現解析を行い、スキルス胃癌に関連する miRNA の同定を試みた。その結果、非スキルス胃癌と比較してスキルス胃癌で発現が亢進していた 6 つの miRNA (miR-143、miR-145、miR-125b、miR-99a、miR-100、miR-17-3p) が同定された。これらのうち、スキルス胃癌でもっとも発現が高かった miR-143 に注目した。胃癌凍結切片 20 例ならびに胃癌パラフィン包埋切片 30 例を用いた定量的 RT-PCR では、miR-143 は非スキルス胃癌および周辺非癌部胃粘膜と比較してスキルス胃癌で高発現することが確認された。 <i>In situ</i></p>			

hybridization による検討では、スキルス胃癌組織内の間質成分に含まれる線維芽細胞の一部に miR-143 の発現が認められた。細胞株を用いた検討においても、胃癌細胞株と比較して正常の胃線維芽細胞 (NF-33, 34, 35, 38)、特に癌関連線維芽細胞 (CaF-33, 34, 35, 38) で高いことが確認された。以上から、miR-143 はスキルス胃癌で発現が亢進しており、その発現は胃癌細胞周囲の線維芽細胞に由来することが示された。

スキルス胃癌組織内の線維芽細胞における miR-143 の役割を明らかにする目的で、miR-143 の発現が最も高かった NF-38、CaF-38 を材料に miR-143 の発現変化に対する影響を検討した。スキルス胃癌は形態的に、豊富な線維性間質を伴いながら増殖する像を呈することから、まず線維性間質の形成に関連する collagen の発現について検討した。その結果、NF-38、CaF-38 において、miR-143 のノックダウンによりスキルス胃癌の線維性間質と関連する collagen type III の発現量が低下した。またスキルス胃癌で産生量が高いことが知られる TGF- $\beta$  の影響を見たところ、TGF- $\beta$  処理時間に伴い経時的に miR-143 および collagen type III mRNA の発現が誘導された。miR-143 をノックダウンした状態では、TGF- $\beta$  による collagen type III mRNA の発現誘導は見られないこと、TGF- $\beta$  の古典的経路である SMAD2 のリン酸化レベルが低下することから、miR-143 は TGF- $\beta$  /SMAD2 経路の活性化を介して、collagen type III を制御することが示唆された。

68 症例の胃癌切除標本を材料に miR-143 の発現と臨床病理学的因子との関連について検討した結果、miR-143 の発現量と Stage の進行度 ( $P=0.0013$ )、および、スキルス症例 ( $P=0.0428$ ) との間にそれぞれ統計学的に有意な相関を認めた。さらに、胃癌術後予後との関連については、miR-143 発現の高い症例群は低い症例群と比較して統計学的に有意に予後不良であった ( $P=0.0002$ )。

胃癌細胞における miR-143 の機能についても解析を行った。スキルス胃癌由来を含む 2 つの胃癌細胞株 (HSC-44PE, MKN-1) に対し、脱メチル化剤である 5-aza-2'-deoxycytidine を処理したところ、濃度依存的に miR-143 発現誘導が確認され、メチル化による miR-143 の発現抑制が示唆された。これら細胞株に対し miR-143 を強制発現したところ、未処理のものと比較して細胞浸潤能が有意に抑制されたことから、胃癌細胞内では miR-143 は浸潤能を抑制することが示された。

以上の結果から、本論文は miR-143 のスキルス胃癌の間質線維芽細胞における発現とコラーゲン産生を通じての線維性間質形成への関与を明らかにするとともに、miR-143 が胃癌の独立した予後不良因子であることを示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。