

論文内容要旨

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)
Cancer Science, in press.

主指導教員：安井 弥 教授

(創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座分子病理学)

副指導教員：酒井 規雄 教授

(創生医科学専攻病態探索医科学講座神経薬理学)

副指導教員：大上 直秀 准教授

(創生医科学専攻放射線ゲノム医科学講座分子病理学)

内藤 寛

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

胃癌の罹患者数のうち、約6割をアジアの国が占めており、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、五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とされている。一方、microRNA (miRNA)は18~25塩基長程度の小さな機能的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。また、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、治療法が注目を集めているが、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。

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。*In situ* 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唆された。

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- β の影響を見たところ、TGF- β 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。しかし miR-143 をノックダウンした状態では、TGF- β による collagen type III mRNA の発現誘導は見られないこと、TGF- β 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- β /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、Stage の進行した症例 (P=0.0013)、とスキルスの症例 (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。また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。

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 を強制発現させたところ、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。

以上の結果より、miR-143 はスキルス胃癌間質の線維芽細胞で発現しており、コラーゲン産生を通じて線維性間質を形成していることが示唆された。また、miR-143 は胃癌の独立した予後不良因子であることが示された。(1999 字)