

第 6 号様式

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	新保 慶輔
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>Exosome-formed synthetic microRNA-143 is transferred to osteosarcoma cells and inhibits their migration</p> <p>(エクソソーム型 microRNA-143 は骨肉腫細胞に移行し遊走を抑制する)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教授 神谷 研二</p> <p>審査委員 教授 田代 聡</p> <p>審査委員 講師 Amatya Vishwa Jeet</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>骨肉腫は、小児悪性骨腫瘍の 60%を占め、大部分が 10 歳代に発症する。肺転移は、骨肉腫の最も重要な合併症で、1970 年代までは 5 年生存率が 12-20%と最も予後不良な腫瘍の 1 つであったが、その後の多剤化学療法の導入により徐々に予後は改善し、現在では四肢発生で初発時に転移がない症例の 5 年生存率は 70%以上にまで向上している。しかしながら、転移がある症例では、30%未満と未だ予後不良である。近年多くの骨軟部悪性腫瘍において特殊な染色体および遺伝子異常が発見され、その異常を検出することが診断に有用であることがわかってきた。しかし、現状では、その遺伝子異常をターゲットとした治療は確立しておらず、骨軟部悪性腫瘍の治療における、従来とは異なる新たな治療法の確立が望まれている。近年、ノンコーディング RNA である microRNA (miRNA) が新しい遺伝子制御因子として細胞の増殖、分化、アポトーシスなどといった生命現象や疾患に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。miRNA は、約 20 塩基のタンパク質に翻訳されない小分子 RNA であり、細胞内において標的とする mRNA の主に 3' 非翻訳領域に配列相補的に結合し、その標的遺伝子の発現を抑制する。これまで、miR-143 の導入により骨肉腫マウスの肺転移を抑制することや、骨肉腫細胞の増殖を抑制することが報告されている。これら miRNA は、これまで細胞内で機能し、速やかに分解されると考えられていたが、</p>			

最近 miRNA は、exosome (エクソソーム) といったエンドソーム由来の小胞顆粒に包まれた形で細胞外に分泌し、血漿など体液中に存在し、循環していることが明らかになってきた。また、~~そして~~がん患者で高発現している分泌 miRNA が報告され、診断マーカーとしての可能性も示されている。さらに興味深いことは、細胞より分泌された miRNA は、標的細胞内へ移動し、遺伝子発現を制御することで標的細胞の機能に関与していることが報告された。本研究~~において我々~~では、新たなドラッグデリバリーシステムとしてのエクソソームに注目し、エクソソーム型 miR-143 による骨肉腫細胞への影響に~~対し~~ついて検討を行った。

方法は、導入 miR-143 が分泌されるかどうかを明らかにするために、間葉系幹細胞 (MSC) に合成 miR-143 を導入後、その培養上清中の miR-143 をリアルタイム PCR で解析した。さらに、培養上清をヒト骨肉腫細胞株 (143B) へ添加し、骨肉腫細胞における miR-143 の発現と細胞増殖能や遊走能について解析を行った。次に、培養上清中のエクソソームが骨肉腫細胞への miR-143 の導入に関与しているかを明らかにするために、miR-143 を導入した MSC の培養上清を超遠心法によりエクソソーム画分とエクソソームを含まない上清画分に分離した。それらを骨肉腫細胞の培地へ添加し、同様な~~に~~解析を行った。最後に、MSC を用いたエクソソーム型 miR-143 による骨肉腫細胞への導入法と既存の liposome (リポソーム) による導入法において~~で~~、導入効率や細胞毒性などを比較した。

結果は、MSC に合成 miR-143 を導入すると培養上清中に分泌された。この培養上清を骨肉腫細胞に添加すると miR-143 が骨肉腫細胞に導入され、その遊走能を抑制した。そして、MSC の培養上清中に分泌された miR-143 は、~~は~~エクソソーム画分に存在し、エクソソーム型 miR-143 として骨肉腫細胞に移入し、遊走を抑制していることが明らかになった。MSC を用いたエクソソーム型 miR-143 による骨肉腫細胞への導入法は、リポソームによる導入法と比較し、導入効率は低下するが、遊走能の抑制効果に差はなく、細胞毒性の面からもリポソームによる導入法より効果的であることが示された。

以上の結果から、本論文は、~~合成 miR-143 を~~MSC へ導入された合成 miR-143 は、~~するこ~~~~とで~~エクソソーム型 miR-143 として分泌され、そのエクソソーム型 miR-143 は骨肉腫細胞に容易に取込まれ、遊走能を抑制するなど骨肉腫細胞の~~機能~~特性を制御することを示した。この成果は、MSC より分泌させた抗腫瘍作用を持つ miR-143 は、~~エクソソームに内包され~~~~た分泌型として骨肉腫細胞へ取り込まれ~~、増殖低下や転移の抑制に作用する新規のドラッグデリバリーシステム~~として~~になり得る可能性を示すものである~~期待される~~。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。