

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	本間 りりの
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論文題目 Expression and function of Uc.160+, a transcribed ultraconserved region, in gastric cancer (胃癌における Uc.160+の発現・機能解析)			
論文審査担当者			
主査	教授	有 廣 光 司 印	
審査委員	教授	田 中 信 治	
審査委員	講師	Amatya Vishwa Jeet	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>胃癌は我が国で罹患数 2 位死亡数 3 位の癌である。診断・治療技術の進歩に伴い治療成績は向上しているものの罹患数・死亡数はともに横ばいであり、進行・再発胃癌の予後は依然として不良である。転写超保存領域 (Transcribed Ultra-Conserved Region; T-UCR)は、蛋白質をコードしない non-coding RNA のうち、生物種を超えてほぼ 100%同一の配列が保存されているものである。T-UCR ががん関連遺伝子として機能することが示唆されているが、がんにおける T-UCR の詳細な発現調節機構や生物学的な意義に関しては不明な点が多い。本研究で着目した Uc.160+は大腸癌などで発現異常を示す T-UCR として同定され、DNA メチル化による制御が指摘されているが、その機能の詳細は不明であり胃癌における解析もない。そこで本研究では胃癌における Uc.160+の発現調節機構および生物学的な機能の解析を行った。そこで本研究では、胃癌における Uc.160+の発現調節機構および生物学的な機能の解析を行った。</p> <p>胃粘膜組織の非腫瘍部と腫瘍部での Uc.160+の発現を in situ hybridization により評価したところ、正常胃底腺粘膜及び腸上皮化生粘膜において Uc.160+の発現は保たれていたが、胃管状腺腫では発現が減弱し、胃癌においては組織型を問わずほぼ発現が認められなかった。また胃癌外科切除標本においても Uc.160+の発現を qRT-PCR によって評価し、非腫瘍部と比較して腫瘍部で有意に発現が低下しているのを確認した。</p> <p>胃癌細胞株 MKN-1、MKN-7、MKN-45、MKN-74 について qRT-PCR により Uc.160+の発現を検討すると、全ての細胞株において Uc.160+の発現は正常胃組織と比べて著明に低下していた。Uc.160+の発現制御機構として DNA メチル化を想定し、5-Aza-dC を用いた脱メチル化処理による発現変化を調べたところ、Uc.160+は胃癌細胞株 MKN-1 及び MKN-45 におい</p>			

て 5-Aza-dC 処理によって発現が回復した。Uc.160+の上流領域を検索すると CpG アイランドが確認され、バイサルファイトシーケンスによってメチル化状態を評価した結果、癌特異的な過剰メチル化が認められた。さらにルシフェラーゼアッセイを行い、この領域がプロモーター活性を有しており、*in vitro* methylation によってその活性が著しく低下することが示された。以上のことから Uc.160+は胃癌において DNA メチル化により発現が抑制されていることを明らかにした。

さらに胃癌における Uc.160+の機能を検討するため、Uc.160+の配列を有する強制発現ベクターを作成し、胃癌細胞株 MKN-1 および MKN-45 に導入した。Uc.160+を強制発現させた細胞株を用いて Western blot を行ったところ、pAkt の発現が減弱し、PTEN の発現が減弱していた。このことから、Uc.160+は PTEN の発現制御を介して Akt のリン酸化を抑制していることが示唆された。

以上の結果より、本研究では胃癌において Uc.160+は癌特異的な DNA メチル化によって発現が抑制されており、Uc.160+は PI3K/Akt 経路の制御を介して癌抑制的に機能することが明らかになった。本研究は、Uc.160+の胃癌における発現調節機構と生物学的意義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。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	本間 りりの
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Expression and function of Uc.160+, a transcribed ultraconserved region, in gastric cancer (胃癌における Uc.160+の発現・機能解析)			
最終試験担当者			
主 査	教 授	有 廣 光 司 印	
審査委員	教 授	田 中 信 治	
審査委員	講 師	Amatya Vishwa Jeet	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年12月10日の第2回広島大学研究科発表会（MD-PhDコース）及び平成31年2月6日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。			
1 Uc.160+が高発現している胃癌症例の特徴			
2 Uc.160+の発現におけるメチル化以外の制御機構			
3 Uc.160+の他臓器の癌における発現と機能			
4 非翻訳 RNA の安定性			
5 得られた知見の臨床応用への展望			
これらに対して極めて適切な回答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。			

