

論文審査の要旨

報告番号	総研第 399 号	学位申請者	宮元 一隆
審査委員	主査	古川 龍彦	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	武田 泰生	副査 井上 博雅
	副査	橋口 照人	副査 速見 浩士

Tumour-suppressive *miRNA* (*miR*)-26a-5p and *miR*-26b-5p inhibit cell aggressiveness by regulating *PLOD2* in bladder cancer. (膀胱癌において癌抑制型 *miRNA*-26a-5p と *miRNA*-26b-5p は、*PLOD2* を制御し癌細胞の活動性を抑制する)

機能性 RNA である microRNA (miRNA) が、複数の蛋白コード遺伝子を制御する事から注目されており、その発現異常は癌細胞の発生・進展・転移に関与する。miRNA が制御する癌細胞の分子ネットワーク解明は、癌治療の標的分子を探索する上で重要な課題である。学位申請者らは、本研究において他の癌腫で報告してきた癌抑制型 *miR*-26a-5p と *miR*-26b-5p に着目し、膀胱癌における機能とこれら miRNA が制御する分子ネットワークの探索を行った。

膀胱癌検体 ($n=69$)、正常膀胱検体 ($n=23$) から抽出した RNA を用いて qRT-PCR 法により *miR*-26a-5p、*miR*-26b-5p の発現を測定した。これら miRNA の発現低下の理由を探索するために、膀胱癌細胞株にこれら miRNA を核酸導入して機能解析を行った。公共データベース (TargetScan, Gene Expression Omnibus) を用いた *in silico* 解析にて *miR*-26a-5p、*miR*-26b-5p の共通の標的遺伝子を探索した。標的遺伝子について臨床検体における発現と臨床病理学的所見との関係や Kaplan-Meier 法による生存率を検討した。ルシフェラーゼアッセイによりこれら miRNA と標的遺伝子の直接的な結合を検証した。また標的遺伝子の small interfering (siRNA) を用いて loss of function study を行った。その結果以下の知見が明らかにされた。

- 1) *miR*-26a-5p と *miR*-26b-5p の発現は、それぞれ正常組織に比べ、癌組織で有意に抑制されていた。
- 2) *miR*-26a-5p と *miR*-26b-5p を膀胱癌細胞株に核酸導入すると、癌細胞の遊走、浸潤は有意に抑制された。
- 3) *miR*-26a-5p と *miR*-26b-5p の制御する分子ネットワークを探索した結果、細胞外基質の関連遺伝子で collagen crosslinking に関与する *PLOD2* をこれら miRNA の共通の標的候補遺伝子として抽出した。
- 4) *PLOD2* の発現を siRNA によりノックダウンすると、膀胱癌細胞の遊走、浸潤は有意に抑制された。
- 5) ルシフェラーゼアッセイにてこれら miRNA が *PLOD2* を直接制御することを明らかにした。
- 6) *PLOD2* の mRNA の発現は、正常膀胱と比較して膀胱癌にて有意に発現が亢進していた。また *PLOD2* の高発現群では全生存率の有意な低下が認められた ($P=0.0153$)。

本研究により、膀胱癌において *miR*-26a-5p 及び *miR*-26b-5p は *PLOD2* を直接制御する事により癌抑制型 miRNA として機能していることが明らかになった。また癌抑制型 *miR*-26a-5p と *miR*-26b-5p を起点とした膀胱癌の新規分子ネットワークの解析は、発癌メカニズムや新しい治療法の開発につながる可能性が示唆された。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。