

論文審査の要旨

報告番号	総研第 496 号		学位申請者	大迫 祐作
審査委員	主査	古川 龍彦	学位	博士 (医学)
	副査	中川 昌之	副査	井戸 章雄 (
	副査	橋口 照人	副査	上野 真一

Regulation of *MMP13* by antitumor *microRNA-375* markedly inhibits cancer cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma

(食道扁平上皮癌において、腫瘍抑制性 *microRNA-375* は *MMP13* を制御し腫瘍細胞の遊走能・浸潤能を著明に抑制する)

集学的治療の発展にも関わらず、食道扁平上皮癌患者の予後は未だ不良である。申請者らは、予後改善をめざして、食道扁平上皮癌について、癌抑制型マイクロ RNA とされる *microRNA-375(miR-375)* の制御する新規の分子経路を明らかにすることを目的に本研究を行った。

前治療のない食道扁平上皮癌切除例 25 例を対象とした。細胞実験には食道扁平上皮癌細胞株 TE-8 と TE-9 を用いた。PCR 法を用いて食道扁平上皮癌の癌部、正常上皮および細胞株の *miR-375* 発現を比較した。次に、*miR-375* を核酸導入した細胞株を用いて増殖能・遊走能・浸潤能アッセイを行った。*miR-375* の標的遺伝子を遺伝子発現解析および *in silico* 解析を併用して検索した。PCR 法、免疫組織化学染色を用いて癌部、正常上皮および細胞株の標的遺伝子・タンパクの発現を比較した。標的遺伝子が *miR-375* に直接制御されていることを確認するため、Luciferase reporter assay を行った。*MMP13* をノックダウンした細胞株を用いて増殖能・遊走能・浸潤能アッセイを行った。*MMP13* をノックダウンした細胞株の遺伝子発現解析を行い、*MMP13* の関与する分子経路について検討した。その結果、以下の知見を得られた。

- 1) 正常上皮に比較して、食道扁平上皮癌検体および細胞株では *miR-375* 発現は有意に低下していた。
- 2) *miR-375* を核酸導入した細胞株では、遊走能・浸潤能が有意に低下した。
- 3) *miR-375* の標的遺伝子候補として *MMP13* を同定した。
- 4) 正常上皮に比較して、食道扁平上皮癌検体および細胞株では *MMP13* 発現は有意に上昇していた。
- 5) *MMP13* は *miR-375* により塩基配列依存性に制御されていることを確認した。
- 6) *si-MMP13* を核酸導入した細胞株は、増殖能・遊走能・浸潤能いずれも低下した。
- 7) *si-MMP13* を核酸導入した細胞株では、*CENPF* などの細胞周期関連遺伝子が多く変動していた。

本研究では、食道扁平上皮癌における *miR-375* の癌抑制機能を確認し、新たな知見として *miR-375* が *MMP13* を直接制御することを見出した。また、*MMP13* のノックダウンの実験から、これが細胞周期関連遺伝子に関与し、増殖能を促進する可能性が示唆された。癌抑制型 *miR-375* を起点とした食道扁平上皮癌の新規分子ネットワークの解析から、発癌や癌の浸潤・転移のメカニズム、新たな治療標的分子の解明に有用な手がかりが示された。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。