HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マイクロRNA-124-5pの大腸癌における生存率との関係および機能解析［全文の要約］
Author(s)	地主, 隆文
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第11557号
Issue Date	2014-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57306
Type	doctoral thesis
File Information	Takafumi_Jinushi_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称　博士（薬科学）　氏 名 地 主 隆 文

学 位 論 文 題 名

マイクロ RNA-124-5p の大腸癌における生存率との関係および機能解析

Enhancer of zeste homolog 2（EZH2）は、種々のがんにおいて過剰発現し、がんの増殖性、転移、予後不良に関連していることが報告されている。Milk fat globule-epidermal growth factor-factor 8（MFG-E8）は腫瘍の悪性化や腫瘍微小環境の維持に関連し、がんにおいて発現が亢進していることが報告されている。miRNA は約 20 塩基からなる低分子量 RNA であり、一般的に、mRNA の 3'非翻訳領域中の相補的配列に結合することでその翻訳を抑制、または RNA 干渉により mRNA を分解してタンパク質産生を制御すると言われている。miRNA の発現とがんの発生や進展、予後、薬剤耐性との関連が示唆されており、血漿などの体液の採取、発現量の評価は容易に実施できることから、血漿中 miRNA をがんの診断、予後等のバイオマーカーとして応用できる可能性が期待されている。

がんと関連している *EZH2*、*MFG-E8* と大腸癌の予後等との関係、*EZH2*、*MFG-E8* と結合する可能性のある miRNA と大腸癌との関係は不明である。本研究では大腸癌患者における血漿および癌病巣部における miRNA、*EZH2*、*MFG-E8* の発現と生存率との関係について、また、生存率との関係が認められた miRNA-124-5p が標的とする mRNA について機能解析を行った。

北海道消化器科病院に通院した大腸癌患者で、臨床研究に同意した 71 名の患者より採取された血漿及びホルマリン固定癌病巣部切片から RNA を抽出し、cDNA を作成した。*EZH2*、*MFG-E8* 及び *EZH2*、*MFG-E8* に結合する可能性があり、癌との関連も示唆されている miR-16、miR-21、miR-26a、miR-34a、miR-98、miR-101-3p、miR-101-5p、miR-124-5p、miR-126-3p、miR-126-5p、miR-210、miR-217 及び miR-630 についてリアルタイム PCR 法を用いて発現量を評価し、生存期間との関係について評価した。大腸癌細胞株 WiDr 細胞にリポフェクション法を用いて miR-124-5p mimic を導入し、*SMC4* mRNA、*LRP1B* mRNA のノックダウン効果はリアルタイム PCR 法を、細胞増殖能は MTT assay 法を用いて評価した。

MFG-E8 の発現量は切除不能患者群において完全切除した患者群よりも有意に高いことが認められた。切除不能患者において、血漿中 miR-26a の発現量が低い患者群では高い患者群に比べて生存期間が有意に延長することが認められた。また、血漿中 miRNA-124-5p が高い患者群では低い患者群よりも有意に生存期間が延長することが認められた。WiDr 細胞の miR-124-5p mimic 導入により *SMC4* mRNA および *LRP1B* mRNA の発現は有意に減少し、その低下レベルは siRNA 導入と同レベルであった。miR-124-5p mimic、*SMC4* mRNA のノックダウンは WiDr 細胞の増殖を抑制し、*LRP1B* mRNA のノックダウンは WiDr 細胞の増殖を抑制しなかった。

以上の結果から、miR-124-5p はがん遺伝子である *SMC4* の発現を抑制し、大腸癌患者の生存期間を延長させる可能性が考えられる。

本研究の結果は、血漿中の miR-124-5p、miR-26a 発現量は生存期間と関連し、大腸癌患者の予後に関するバイオマーカーとなることを示唆している。