

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(小濱 一作) 印

Comprehensive serum and tissue microRNA profiling in dedifferentiated liposarcoma
脱分化脂肪肉腫における血清、組織中microRNAプロファイリングの比較実験

肉腫は全悪性腫瘍の1%を占める希少がんである。そのため、肉腫の病態解明には困難があり、有効な早期診断手法の開発が他がん腫に比較して、遅れている。診断される時点では病状が進行している場合も多い。

MicroRNA (miRNA)は、17-25塩基対の非コーディングmicroRNAである。miRNAは転写レベルで、ターゲットとなるMessenger RNA (mRNA)に作用して発現の制御を行う。miRNAは生理的ホメオスタシスの維持や病理学的プロセスの制御に寄与しており、がんの進展の制御に重要な役割を担っている。また、細胞外miRNA (Circulating miRNA) は新たながんのバイオマーカーとして注目をされている。

エクソソームは100nmサイズの細胞外小胞であり、miRNA、mRNA、DNA、蛋白を内包して、細胞から細胞外へ能動輸送され、分泌される。近年の研究では、エクソソームを介して、miRNAががん細胞や微小環境へ輸送されて、がんの進展や転移に関連していることがわかってきている。

しかしながら、肉腫における、miRNAやエクソソームの役割についてはまだよく解明されていない。本研究では、骨肉腫 (OS)、脱分化脂肪肉腫 (DDLPS)、Ewing肉腫 (EWS) の組織と血清中から抽出したmiRNAの発現量の相関係数を算出し、miR-1246、miR-4532、miR-4454、miR-619-5p、miR-6126が新たなDDLPSのバイオマーカーの候補となることを示した。

OS 22例、DDLPS 17例、EWS 3例の同一患者の組織中と血清中のmiRNAの発現量を調べた。高発現 (signal intensity $>2^6$) したものが、組織中で689個と血清中で142個あった。このうち、141個が同一のものであった。これらのmiRNAで、組織中のmiRNAと血清中のmiRNAの発現量比較をして、Pearson相関係数を算出した。このうち、DDLPSのmiRNAうち、比較的相関係数が高いmiRNAが5つ (miR-1246、miR-4532、miR-4454、miR-619-5p、miR-6126) 見つかった。

次に、ヒトDDLPS細胞株 (LP6、LPS12) を用いて、上記miRNAの発現量を調べた。miR-1246、miR-4532、miR-4454、miR-619-5pはヒトDDLPS細胞株内でヒト脂肪由来幹細胞 (ADSC) と比較して有意に高発現をしていた。また、miR-1246、miR-4454、miR-619-5pはLP6、LPS12両方の細胞株内で有意に高発現していた。さらに、miRNAをヒトDDLPS細胞株へトランスフェクションして増殖能を調べた。結果は、miR-4532を導入した場合、有意に増殖能力が上がった。

更に、細胞株からエクソソームを回収して、miRNAの発現量をADSCと比較した。miR-1246、miR-4454、miR-619-5pはLP6のエクソソーム内で、ADSCと比較して有意に高発現していた。一方で、LPS12内のそれぞれのmiRNAの発現量は低かった。

miR-1246、miR-4532、miR-4454、miR-619-5p、miR-6126はDDLPS臨床サンプルの組織と血清を比較することで、相関は示したが、比較的高い ($R = 0.20 \sim 0.49$) 程度のものであった。これにヒトDDLPS細胞株を用いて、細胞内とそれらが放出するエクソソーム内のmiRNAの発現量を調べた。上記miRNAのうち、miR-1246、miR-4454、miR-619-5pはDDLPSの細胞株内と放出されたエクソソーム内でもともに高発現していた。よって、miR-1246、miR-4454、miR-619-5pはDDLPS細胞からエクソソームを介して、血清内に放出されている可能性を示した。これらのmiRNAはDDLPSのバイオマーカーの候補となりえると考えられた。