

論 文 内 容 要 旨

題目 Downregulation of microRNA-100/microRNA-125b is associated with lymph node metastasis in early colorectal cancer with submucosal invasion
(microRNA-100/microRNA-125b 発現の低下は大腸粘膜下層浸潤癌のリンパ節転移に関与する)

著者 Yasuteru Fujino, Shunsaku Takeishi, Kensei Nishida, Koichi Okamoto, Naoki Muguruma, Tetsuo Kimura, Shinji Kitamura, Hiroshi Miyamoto, Akiko Fujimoto, Jun Higashijima, Mitsuo Shimada, Kazuhito Rokutan, Tetsuji Takayama
平成 29 年 3 月発行 Cancer Science 掲載予定

内容要旨

早期大腸癌のうち、粘膜を超えて粘膜下層 (SM) に浸潤した大腸癌では 10～20%にリンパ節転移を有することが報告されている。そのため、大腸 SM 癌の治療は、早期癌にもかかわらずリンパ節郭清を伴う大腸切除術を行うことが原則である。しかし、手術所見として実際に転移を有する症例は少なく、結果的に大部分が over surgery となっている。一方、microRNA (miRNA) は 20～25 塩基からなる機能性 non-coding RNA であり、標的 mRNA に結合して各種遺伝子発現を制御し、細胞増殖やアポトーシス、癌の転移・浸潤に関与することが知られている。大腸 SM 癌においても、特定の miRNA が標的遺伝子の発現を抑制し、転移を制御していることが想定される。さらに、最近 miRNA マイクロアレイが開発され、2000 種類を超える全 miRNA を網羅的に解析することが可能となった。そこで本研究では、miRNA マイクロアレイを用いてリンパ節転移陽性及び陰性の大腸 SM 癌における miRNA 発現を網羅的に解析し、有効なバイオマーカーを検索した。また、培養大腸癌細胞を用いて miRNA の標的遺伝子を調べるとともに、リンパ節転移の分子機序を検討した。

まず初めに、リンパ節転移陽性及び陰性の大腸 SM 癌組織より macrodissection により採取した癌細胞から total RNA を抽出し miRNA マイクロアレイ解析を行い、Real-time PCR により validation を行ったところ、リンパ節転移陽性群では miR-100 及び miR-125b の発現が有意に低下していた。次に、大腸癌細胞株 HCT-116, RKO に対して miRNA inhibitor を導入し、浸潤能、遊走能、細胞増殖能、matrix metalloproteinase (MMP) 活性などを調べたところ、浸潤能、遊走能、

様式 (8)

MMP 活性が有意に亢進した. 逆に, miR-100 または miR-125b の mimic を導入した細胞群では, コントロール群に比べ浸潤能, 遊走能, MMP 活性が有意に低下した. さらに, 大腸癌細胞株 HCT-116 に miRNA inhibitor を導入して microarray 解析を行い, IPA 及び Target Scan により miRNA の標的遺伝子を検索したところ, miR-100 の標的遺伝子として mTOR, Fas, XIAP, IGF1R, miR-125b の標的遺伝子として XIAP が抽出され, これらの遺伝子をノックダウンすると浸潤能が有意に低下した.

以上より, 大腸 SM 癌では miR-100 の発現低下により標的遺伝子として mTOR, IGF1R, Fas, XIAP の発現が亢進し, miR-125b の発現低下により XIAP の発現が亢進し, リンパ節転移を促進することが示唆された. また, miR-100 及び miR-125b が大腸 SM 癌のリンパ節転移予測のバイオマーカーとなることが示唆された.

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1329号	氏名	藤野 泰輝
審査委員	主査 丹黒 章 副査 片桐 豊雅 副査 井本 逸勢		

題目 Downregulation of microRNA-100/microRNA-125b is associated with lymph node metastasis in early colorectal cancer with submucosal invasion

(microRNA-100/microRNA-125b 発現の低下は大腸粘膜下層浸潤癌のリンパ節転移に関与する)

著者 Yasuteru Fujino, Shunsaku Takeishi, Kensei Nishida, Koichi Okamoto, Naoki Muguruma, Tetsuo Kimura, Shinji Kitamura, Hiroshi Miyamoto, Akiko Fujimoto, Jun Higashijima, Mitsuo Shimada, Kazuhito Rokutan, Tetsuji Takayama

平成 29 年 3 月発行 Cancer Science 掲載予定

(主任教授 高山 哲治)

要旨 大腸癌に対する内視鏡治療が進歩し、従来の粘膜切除術では切除できない粘膜下層浸潤癌(以下SM癌)に対して粘膜下層切開剥離術が行われるようになった。しかし、SM癌では10~20%にリンパ節転移を有し、SM深部浸潤癌では大腸切除術を行うのが原則である。現在、リンパ節転移を予測する分子マーカーはなく、その開発が求められている。

microRNA(miRNA)は、20~25塩基からなる機能性non-coding RNAであり、標的mRNAに結合して各種遺伝子発現を制御し、細胞増殖やアポトーシス、癌の転移・浸潤に関与する。特定のmiRNAの発現が転移・浸潤に関与する標的遺伝子の発現変化を介してリンパ節転移を引き起こす可能性がある。最近、miRNAマイクロアレイが開発され、2000種を超える全miRNAを網羅的に解析することが可能となった。本研究では、miRNAマイクロアレイを用いてリンパ節転移陽性及び陰性の大腸SM癌を解析し、有効なバイオマーカーを検索した。また、培養細胞を用いて候補miRNAの標的遺伝子を調べることで、リンパ節転移の機序を検討した。

得られた結果は以下の如くである。

1. リンパ節転移陽性群では陰性群に比べてmiR-100及びmiR-125bの2つのmiRNA発現が有意に低下していた。
2. 培養大腸癌細胞にこれらmiRNAのinhibitorを遺伝子導入したところ、浸潤能、遊走能及びmatrix metalloproteinase (MMP) 活性が有意に亢進した。
3. これらmiRNAのmimicを遺伝子導入したところ、浸潤能、遊走能、MMP活性は有意に抑制された。
4. 培養細胞にmiRNA inhibitorを添加してマイクロアレイ解析を行い、Target ScanやIngenuity Pathway Analysisにより標的遺伝子を調べたところ、miR-100の標的遺伝子としてmTOR, Fas, XIAP, IGF1R, miR-125bの標的遺伝子としてXIAPが抽出された。
5. 培養細胞におけるmTOR, Fas, XIAP, IGF1Rの発現をsiRNAによりノックダウンしたところ浸潤能は有意に低下した。

以上より、大腸SM癌ではmiR-100及びmiR-125bが低下し、mTOR, IGF1R, Fas, XIAPなどの標的遺伝子の発現上昇を介して転移・浸潤をきたすことが示唆された。

本研究は、大腸癌におけるリンパ節転移の機序の解明のみならず、大腸 SM 癌のリンパ節転移のバイオマーカーの開発に貢献するものと考えられ、学位授与に値すると判定した。