

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 藤井 央法

〔題名〕

Extracellular miR-224 as a prognostic marker for clear cell renal cell carcinoma
(細胞外miRNA-224は淡明型腎細胞癌の予後予測マーカーになり得る)

〔要旨〕

近年、早期診断や治療効果を予測するためのバイオマーカー検索を目的とした低侵襲なlipid biopsyが注目されている。泌尿器科癌分野においても、liquid biopsyの1つであるexosomeが注目され、exosome内に含有されるmiRNAが癌の進行や転移について関連しているとの報告もされている。我々は、がん細胞内miR-224が淡明型腎細胞癌で発現が高く、癌の進展や転移に関連があることを以前報告した。今回、淡明型腎細胞癌の血清中のexosomeに含有されている細胞外miRNA-224の役割について検討を行った。

まず、細胞上澄み液や血清からexosomeを抽出し、透過型電子顕微鏡を用い正確にexosomeが抽出されていることを確認した。当院で外科的治療が施行された非転移性腎細胞癌患者108人を対象とし、同一患者の術前の血清からexosomeを採取し、exosomal miRNA-224の発現と予後の関連を検討した。また、転移性腎癌細胞株(Caki-1)から抽出したexosomeを原発性腎癌細胞株(769-P)へ添加し、添加されたexosomeの取り込みと機能解析を行い、exosomeの細胞間相互作用についても検討した。

Exosomal miRNA-224の高発現群は、有意にprogression-free survival, cancer-specific survival, overall survivalが悪く、予後不良であった。多変量解析においても、exosomal miRNA-224高発現はこれらの予後に関連した独立予後因子であった。Caki-1 (miRNA-224高発現株) 培養上清から抽出したexosomeを769-P (miRNA-224低発現株) へ添加すると、cell viabilityとinvasionが有意に増加し、apoptotic cellsは有意に減少を認めた。蛍光免疫にて、細胞間の細胞外microRNAの細胞内への移動を確認し、細胞外microRNAの細胞培養液への付加で、別の細胞内のmiR-224発現レベルも有意な増加が認められた。

Exosomal miRNA-224はがん悪性を亢進させ、淡明型腎細胞癌において有用な低侵襲な予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1509 号	氏 名	藤井 央法
論文審査担当者	主査教授	田邊 剛	
	副査教授	永塚 浩明	
	副査教授	松山 義泰	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Extracellular miR-224 as a prognostic marker for clear cell renal cell carcinoma (細胞外 miRNA-224 は淡明型腎細胞癌の予後予測マーカーになり得る)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Extracellular miR-224 as a prognostic marker for clear cell renal cell carcinoma (細胞外 miRNA-224 は淡明型腎細胞癌の予後予測マーカーになり得る)			
掲載雑誌名 Oncotarget 8 (66) P. 109877-109888 (2017年11月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
【要旨】			
<p>近年、早期診断や治療効果を予測するためのバイオマーカー検索を目的とした低侵襲な lipid biopsy が注目されている。泌尿器科癌分野においても、liquid biopsy の1つである exosome が注目され、exosome 内に含有される miRNA が癌の進行や転移について関連しているとの報告もされている。我々は、がん細胞内 miR-224 が淡明型腎細胞癌で発現が高く、癌の進展や転移に関連があることを以前報告した。今回、淡明型腎細胞癌の血清中の exosome に含有されている細胞外 miRNA-224 の役割について検討を行った。</p> <p>まず、細胞上澄み液や血清から exosome を抽出し、透過型電子顕微鏡を用い正確に exosome が抽出されていることを確認した。当院で外科的治療が施行された非転移性腎細胞癌患者 108 人を対象とし、同一患者の術前の血清から exosome を採取し、extracellular miRNA-224 の発現と予後の関連を検討した。また、転移性腎癌細胞株(Caki-1)から抽出した exosome を原発性腎癌細胞株(769-P)へ添加し、添加された exosome の取り込みと機能解析を行い、exosome の細胞間相互作用についても検討した。</p> <p>Extracellular miRNA-224 の高発現群は、有意に progression-free survival, cancer-specific survival, overall survival が悪く、予後不良であった。多変量解析においても、extracellular miRNA-224 高発現はこれらの予後に関連した独立予後因子であった。Caki-1 (miRNA-224 高発現株) 培養上清から抽出した exosome を 769-P (miRNA-224 低発現株) へ添加すると、cell viability と invasion が有意に増加し、apoptotic cells は有意に減少を認めた。蛍光免疫にて、細胞間の細胞外 microRNA の細胞内への移動を確認し、細胞外 microRNA の細胞培養液への付加で、別の細胞内の miR-224 発現レベルも有意な増加が認められた。</p> <p>Extracellular miRNA-224 はがん悪性度を亢進させ、淡明型腎細胞癌において有用な低侵襲な予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。</p>			
<p>本論文は、liquid biopsy の一種である exosome 内の miRNA-224 が、淡明型腎細胞癌において oncogenic な機能を有し、予後予測マーカーとなることが示唆され、遠隔転移形成に強い影響を与える可能性を示し、学位論文として価値あるものと認められた。</p>			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			