

Title	Decreased miR-340 expression in bone marrow is associated with liver metastasis of colorectal cancer
Author(s)	竹山, 廣志
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34253
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	竹山 廣志
論文題名 Title	Decreased miR-340 expression in bone marrow is associated with liver metastasis of colorectal cancer (骨髓中のマイクロRNA-340の低下は大腸癌肝転移に関与する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 近年、骨髓を介した癌転移メカニズムの重要性が提唱されている。様々な癌で骨髓中の遊離癌細胞の存在の有無が再発や予後に寄与しているという報告があるが、骨髓中に遊離癌細胞の存在する症例全てが転移・再発を来たすわけでは無く、転移を起こす症例とそうでないものがある。しかし、これまでに骨髓遊離癌細胞に対して遺伝子学的解析が行われた報告は少なく、中でも予後マーカーや治療targetとして注目されているmicroRNA (miR) 発現についての報告は胃癌の1報のみである。今回我々は、大腸癌患者の骨髓中の遊離癌細胞 (disseminated tumor cell/DTC) におけるmiRの発現を肝転移群と非転移群とで比較検討し、転移と関連して予後マーカーや治療target として有用なmiRの同定を試みた。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ①2010年2月から11月までの大腸癌症例19例 (非遠隔転移群12例、肝転移群7例 (同時性転移5例、異時性転移2例)) を対象とした。大腸癌切除手術時に全身麻酔下にて両側前上腸骨棘より骨髓液を採取した。骨髓細胞を表面抗原マーカー (CD14、CD45、EpCAM) を用いて磁気標識し、autoMACS™ Pro Separator (Miltenyi Biotec) を用いてDTC (CD14-CD45-/EpCAM+) 分画を分離抽出した。miRマイクロアレイ (Agilent) を用いて両群間での発現の差 (Fold: changel. 5倍以上, $P < 0.05$) を認めるmiRを10個抽出した (miR-340、miR-542-3p、miR-630、miR-362-3p、miR-939、miR-222、miR-151-5p、miR-155、miR-501-5p、miR-652)。抽出されたmiRの癌促進機能および抑制機能を、今回のアレイの結果と過去の文献とを比較すると10個中7個が一致していた (2個については過去の報告認めず)。この内の発現差上位2個であるmiR-340、miR-542-3pについて、アレイで解析したものと同一のサンプルを用いてqRT-PCR法で発現を確認すると、アレイの結果と同様に両群間で有意差を認める結果が得られた。 ②臨床サンプルを用いてmiR-340、miR-542-3pの癌部と正常粘膜での発現をqRT-PCR法で解析した。miR-542-3pでは有意差は認めなかったが ($P = 0.973$)、miR-340については有意差を認めた ($P = 0.015$)。さらに根治的切除術が施行された大腸癌症例136例を対象とし、miR-340の発現を測定し予後評価を行った。miR-340が低発現している症例では全生存率 ($P = 0.046$) 及び無再発生存率 ($P = 0.023$) が悪く、miR-340は有意に予後と相関していた。多変量解析でもmiR-340は独立予後因子となった ($P = 0.042$)。 ③ヒト大腸癌細胞株HCT116とSW480を用いて、miR-340とmiR-542-3pによる細胞増殖抑制効果を検討した。HCT116とSW480の両方に対してmiR-340とmiR-542-3pの両方が有意に細胞増殖抑制効果を認めた ($P < 0.05$)。さらにHCT116を用いた皮下腫瘍モデルマウスを用いて、炭酸アパタイト法を用いたmiR-340の尾静脈からの全身投与による細胞増殖抑制効果を検討した。miR-340投与により有意に腫瘍増殖抑制効果を認めた ($P < 0.05$)。 ④過去の文献からmiR-340の標的遺伝子と報告されているc-Metの発現をmiR-340の過剰発現系を用いて検討した。HCT116とSW480の両方においてmiR-340過剰発現後、c-Metの発現は有意に低下していた ($P < 0.05$)。さらにHCT116を用いた皮下腫瘍モデルマウスにおいても、miR-340全身投与後の腫瘍内のc-Metの発現低下を認めた ($P < 0.01$)。臨床予後解析でもmiR-340低発現、かつc-Met高発現は予後不良であった。 〔総 括(Conclusion)〕 大腸癌症例の骨髓中の遊離癌細胞のmiR発現を、肝転移群と非転移群との間で比較検討することで10個のmiRが抽出された。10個のmiRの発現上昇および低下は、癌に対する促進および抑制に関してこれまでの報告とよく一致していた。その中でもmiR-340は<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>で腫瘍細胞増殖抑制効果を認め、さらにmiR-340発現低下は大腸癌切除後症例の独立予後因子となっていた。また標的遺伝子としてc-Metの発現抑制が臨床上重要と考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		竹 山 廣 志	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	森 正 樹
	副 査	大阪大学教授	奥 村 明 彦
	副 査	大阪大学教授	小 川 和 彦
論文審査の結果の要旨			
本研究では、大腸癌症例の骨髄より、骨髄中の癌細胞/disseminated tumor cell (DTC)を濃縮したfractionを収集することに成功した。さらに、マイクロRNAアレイによる解析の結果、肝転移を有する患者群の骨髄中のDTC fractionでは、miR-340およびmiR-542-3pの有意な減少がみられた。中でもmiR-340は、<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>において癌抑制的に働き、その発現低下は大腸癌切除後の独立予後因子となっていた。また標的分子としてはc-Metの発現抑制が臨床上、重要と考えられた。 これらの結果は、骨髄中の癌細胞の肝転移に関する性質をマイクロRNAの観点から初めて明らかにしたものであり、学位に値すると認められる。			