



Title	MiR-92a inhibits peritoneal dissemination of ovarian cancer cells by inhibiting integrin $\alpha$ 5 expression
Author(s)	大八木, 知史
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59809">https://hdl.handle.net/11094/59809</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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

【103】

氏名	おおやぎ ほんち ちみ 大八木(原)知史
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 25929 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	MiR-92a inhibits peritoneal dissemination of ovarian cancer cells by inhibiting integrin $\alpha 5$ expression (MiR-92a は integrin $\alpha 5$ の発現を抑制することにより卵巣癌腹膜播種 を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 木村 正 (副査) 教授 森 正樹 教授 森井 英一

論文内容の要旨

〔目的〕

卵巣癌は近年増加傾向にあり女性性器悪性腫瘍のなかで最も死亡率が高い。卵巣癌はその半数以上が腹腔内に腹膜

播種をきたした進行症例で発見され、その患者の5年生存率は未だに約 30% でしかない。これまでの先行研究で我々は大網や腹膜ではファイブロネクリンが強発現していること、さらに卵巣癌の一部はファイブロネクチンの受容体である integrin  $\alpha 5$  が強発現していることを報告してきた。従って、この integrin  $\alpha 5$  に対する分子標的治療は卵巣癌の腹膜播種制御に対する新たな選択肢になりうると考え、その分子レベルでの制御機構について検討を行った。今回の研究では遺伝子の転写・翻訳を制御している microRNA (miRNA) に着目し、integrin  $\alpha 5$  を制御する miRNA の同定し、その miRNA を標的とした治療の可能性について検討した。

〔方法ならびに成績〕

臨床検体における integrin  $\alpha 5$  の発現を検討するために、大阪府立成人病センターにて2000年から2005年の6年間に治療を行った卵巣癌症例から組織マイクロアレイを作成し、114症例による後方視的解析を行った。Integrin  $\alpha 5$  抗体による免疫染色を行い、高発現群・低発現群に分けて検討した。腹膜播種をきたしている進行期Ⅲ期の症例では全生存期間、無病生存期間ともに高発現群において有意に予後が不良であった。次に、in silico に integrin  $\alpha 5$  を標的とする miRNA の同定を行い、hsa-miR-92a (miR-92a) に着目した。種々の卵巣癌細胞株を用い miR-92a および integrin  $\alpha 5$  の発現の相関性を検討したところ、両者は有意に逆相関していた。続いて卵巣癌細胞株に miR-92a を強制導入し、miR-92a および integrin  $\alpha 5$  の発現変動を検討した。miR-92a 強制導入群では integrin  $\alpha 5$  の発現が mRNA レベル、蛋白レベルで低下し、逆に miR-92a の発現を阻害したところ、それらの発現が亢進した。また、ルシフェラーゼアッセイを行い、miR-92a は integrin  $\alpha 5$  の 3' 非翻訳領域の転写活性を直接制御していることを確認した。miR-92a による integrin  $\alpha 5$  の発現抑制に伴う転移抑制機序について検討したところ、miR-92a 強制発現卵巣癌細胞では接着能、浸潤能および増殖能が有意に低下しており、さらに、インテグリンシグナルの下流にある Focal adhesion kinase (FAK) のリン酸化は抑制され、細胞外マトリックスを分解する Matrix metalloproteinase (MMP) 2 の発現も有意に低下していた。続いて卵巣癌腹膜播種モデルマウスを用いて、miR-92a の卵巣癌細胞への遺伝子導入による腹膜播種の抑制効果の有無について検討を加えた。卵巣癌細胞株 HeyA-8 に miR-92a 発現ベクターを取り込んだ Lentivirus を導入し miR-92a 安定発現株を作成した。miR-92a 安定発現株では integrin  $\alpha 5$  の発現が有意に低下していた。その miR-92a 安定発現細胞とコントロール細胞を免疫不全マウスの腹腔内に投与し、14日後に安楽死させ播種病変を比較検討した。播種病変数、総腫瘍重量は共に miR-92a 安定発現株を移植されたマウスにおいて有意に低値であった。また播種病変のパラフィン切片を用いた免疫組織染色では miR-92a 安定発現株において integrin  $\alpha 5$  の発現および FAK のリン酸化が抑制されていた。さらに腫瘍増殖のマーカーである Ki-67 の陽性細胞数も減少しており、miR-92a 導入によりモデルマウスにおいて腹膜播種が抑制されることを確認した。

〔総括〕

腹膜播種をきたした進行卵巣癌において、integrin  $\alpha 5$  の発現が予後因子であることを証明した。その integrin  $\alpha 5$  の発現は miR-92a により直接制御されており、miR-92a はその強制導入により卵巣癌細胞株において接着能、浸潤能および増殖能を抑制した。また、腹膜播種モデルマウスによる動物実験において miR-92a 発現株移植群においてコントロールと比べて有意な播種抑制効果を認めた。以上、miR-92a は少なくとも一部の卵巣癌において腹膜播種に対する新たな治療標的になる可能性が提示された。

## 論文審査の結果の要旨

卵巣癌は半数以上が腹膜播種をきたした進行症例であり、腹膜播種の制御は卵巣癌治療につながる可能性がある。先行研究で腹膜ではファイブロネクチンが強発現しており、更に卵巣癌の一部ではファイブロネクチンの受容体である integrin  $\alpha 5$  が強発現していることを報告している。本研究は、先行研究を踏まえ microRNA (miRNA) に着目し、integrin  $\alpha 5$  を制御する miRNA の同定を行い、その miRNA を標的とした治療の可能性を検討することを目的に行った。

臨床検体を用い腹膜播種をきたした進行卵巣癌において、integrin  $\alpha 5$  の発現が予後因子であることを証明した。その integrin  $\alpha 5$  の発現は miR-92a により直接制御されており、miR-92a はその強制導入により卵巣癌細胞株において接着能、浸潤能および増殖能を抑制した。また、腹膜播種モデルマウスによる動物実験において miR-92a 発現株移植群においてコントロールと比べて有意な播種抑制効果を認めた。以上、miR-92a は少なくとも一部の卵巣癌において腹膜播種に対する新たな治療標的になる可能性を提示した。

以上より、本論文は学位論文に値すると考える。