

Title	Exosomal miR-99a-5p is elevated in sera of ovarian cancer patients and promotes cancer cell invasion by increasing fibronectin and vitronectin expression in neighboring peritoneal mesothelial cells
Author(s)	吉村, 明彦
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73454
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 ＜/a＞ をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 吉村 明彦	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 木村 正
	副 査 大阪大学教授 河原行郎
	副 査 大阪大学教授 野口真三郎
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>卵巣癌は約半数が腹膜播種を伴う進行癌で診断される予後不良な疾患であり、早期診断のためのバイオマーカーが求められている。本研究では卵巣癌細胞株が放出するエクソソーム中のマイクロRNAの発現の網羅的解析を行い、卵巣癌のバイオマーカーとなりうる候補マイクロRNAの抽出および検証を行った。また抽出した候補マイクロRNAであるmiR-99a-5pの卵巣癌の進展における働きについて腹膜中皮細胞（HPMC）を使用した3D腹膜モデルを使用して検証し、miR-99a-5pによるHPMC中のタンパク発現の変化をプロテオーム解析で検証した。卵巣癌患者の血清miR-99a-5pの発現は有意に上昇していた。卵巣癌エクソソームに内包されるmiR-99a-5pはHPMC中のfibronectinとvitronectinの発現を上昇させ、卵巣癌の腹膜浸潤を促進しており、治療標的となる可能性が示唆された。</p> <p>上記の論文は博士（医学）の学位授与に値する。</p>	

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	吉村 明彦
論文題名 Title	Exosomal miR-99a-5p is elevated in sera of ovarian cancer patients and promotes cancer cell invasion by increasing fibronectin and vitronectin expression in neighboring peritoneal mesothelial cells (Exosomal miR-99a-5p は卵巣癌患者血清中で上昇しており、腹膜中皮細胞で fibronectin・vitronectin を高発現させ癌浸潤を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 卵巣癌は約半数が腹膜播種を伴う進行癌で診断される予後不良な疾患であり、早期診断のためのバイオマーカーが求められている。本研究では卵巣癌細胞株が放出するエクソソーム中のマイクロRNAの発現の網羅的解析を行い、卵巣癌のバイオマーカーとなりうる候補マイクロRNAの抽出および検証を行った。また抽出した候補マイクロRNAである miR-99a-5p の卵巣癌の進展における働きを検証した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 卵巣癌細胞株HeyA8とTYK-nuおよび不死化した正常卵巣表層上皮細胞 (IOSE) を培養し、培養上清からエクソソームを回収した。そのexosomal RNAを用いてマイクロアレイ解析を行い、卵巣癌細胞エクソソームに特異的に高発現している候補マイクロRNAを検討し、miR-99a-5pに焦点を当てた。そこで62名の卵巣癌患者、26名の卵巣良性腫瘍患者および20名の健常女性より採取した血清中におけるmiR-99a-5pの発現をqRT-PCR法で検証し、バイオマーカーとしての可能性を検討した。卵巣癌患者の血清中において、miR-99a-5pの発現は健常者と比べ有意に上昇しており (2.8倍、 $p < 0.001$)、良性腫瘍との比較においても、miR-99a-5pの発現は有意に上昇していた ($p < 0.01$)。ROC曲線ではAUC 0.88で、カットオフ値1.41 (健常者の平均を1とした場合) とすると、感度85%、特異度75%であった。術前・術後の血清中miR-99a-5pの発現を比較すると (n=26)、術後に有意な減少を認め ($p < 0.01$)、miR-99a-5pの発現が腫瘍由来である可能性が示唆された。 exosomal miR-99a-5pが卵巣癌の腹膜播種においてどのような役割を果たしているかを調べるため、婦人科癌患者から手術で採取した大網から腹膜中皮細胞 (HPMC) を分離・培養して卵巣癌エクソソームを加え、HPMC中のmiR-99a-5pの発現が上昇することを確認した。次にHPMCを使用した3D腹膜モデルを作成し、invasion assayを行った。HPMCに卵巣癌エクソソームを加えると、卵巣癌細胞の浸潤が増加した。同様にHPMCにmiR-99a-5pを遺伝子導入すると、HPMCの増殖能には影響を与えなかったが、卵巣癌細胞の浸潤が増加した。またHPMCに卵巣癌エクソソームを加えた時に、anti-miR-99a-5pを遺伝子導入したHPMCでは通常のHPMCに比べて卵巣癌細胞の浸潤は抑制された。miR-99a-5pが卵巣癌浸潤を促進する機序を調べるため、miR-99a-5pを遺伝子導入したHPMCからタンパクを抽出し、TMT (Tandem Mass Tag) 法によるプロテオーム解析を行った。miR-99a-5pの遺伝子導入によってHPMC中のfibronectinとvitronectinの発現が増加しており、Western blottingでもmiR-99a-5pの遺伝子導入と卵巣癌エクソソームの添加によってそれぞれ同様のタンパク発現の変化が起こることを確認した。また卵巣癌エクソソームによるfibronectinとvitronectinの発現の増加は、anti-miR-99a-5pを遺伝子導入すると減少した。	
〔総括(Conclusion)〕 卵巣癌患者の血清miR-99a-5pの発現は有意に上昇していた。卵巣癌エクソソームに内包されるmiR-99a-5pはHPMC中のfibronectinとvitronectinの発現を上昇させ、卵巣癌の腹膜浸潤を促進しており、治療標的となる可能性が示唆された。	