OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	miR-92b-3p is a prognostic oncomiR that targets TSC1 in clear cell renal cell carcinoma
Author(s)	王, 聡
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76455
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、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	王　聡（Wang Cong）
論文題名 Title	miR-92b-3p is a prognostic oncomiR that targets *TSC1* in clear cell renal cell carcinoma （淡明細胞型腎細胞癌において、miR-92b-3pは*TSC1*を介して細胞増殖を促進し、予後規定因子となる）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

microRNA（miRNA）は翻訳レベルで遺伝子発現を調節し、今まで淡明細胞型腎細胞癌（clear cell renal cell carcinoma, ccRCC）を含め、様々な癌腫にてmiRNAの発現異常が報告されている。我々はこれまでにccRCCにおいて高発現し、腎癌の増悪に関与するoncogenic miRNAに着目してきた。本研究では、新しい治療標的となりうる予後と関連するoncogenic miRNAを探索し、さらにccRCCの進展に寄与するメカニズムを解明することを目的にした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法：

miRNAマイクロアレイによる網羅的解析で、ccRCCに高発現するmiRNAを探索した。TCGA-Kidney Renal Clear Cell Carcinoma（KIRC)を用いて、予後と関連するmiRNAについてSurvMicroを利用して同定した。さらにccRCC75例の臨床検体を用いて候補miRNA発現レベルと予後との関連について、in-house data（検証コホート）を用いて検証を行った。腎癌細胞株を用いて細胞増殖能、遊走能、浸潤能に対する候補miRNAの作用を検討した。発現量の多い細胞株に対しinhibitor、発現量の少ない細胞株に対しmimicをそれぞれ用いた。公共データベースを用いたin silico解析にて候補miRNAが制御する標的遺伝子を探索し、標的遺伝子との結合はルシフェラーゼアッセイにて評価した。

mimicおよびinhibitor導入時に、標的遺伝子のタンパクレベルの発現変化をwestern blot法にて評価した。免疫組織化学染色にて癌部と正常腎組織における標的遺伝子のタンパク発現を評価した。

結果：

正常腎組織と比較し、腫瘍組織で高発現するmiRNA 22種類を同定した。22種類のmiRNAのうち、SurvMicroを利用して検討したところ、予後と有意に関連するmiR-92b-3p 1種類のmiRNA候補を同定した。検証コホートを用いた検討では、miR-92b-3p高発現群は、低発現群に比して、有意にoverall survival（OS）が短かった（P=0.005）。多変量解析においても、miR-92b-3p高発現はOSに関連した予後不良因子であった（P=0.018）。miR-92b-3p阻害は高発現細胞株であるCaki-2細胞の増殖能と浸潤能を抑制した。一方miR-92b-3p過剰発現は、低発現細胞株であるACHN細胞の細胞増殖能、遊走能、浸潤能を促進した。miR-92b-3pが直接制御する標的遺伝子として、mTORの活性を抑制的に制御する*TSC1*を同定した。miR-92b-3p　mimicおよびinhibitor導入時にTSC１およびリン酸化S6Kタンパクの発現変化を評価したところ、mimic導入時には、TSC1が抑制され、S6Kタンパクのリン酸化が亢進したのに対し、inhibitor導入時にはTSC1の発現が増強し、S6Kタンパクのリン酸化が減弱した。免疫組織化学染色では、正常腎組織に比べてmiR-92b-3pの高発現する癌組織において、TSC1の発現が低かった。

〔総　括(Conclusion)〕

ccRCCに高発現するmiR-92b-3pは、予後不良因子であった。miR-92b-3pはccRCCの増殖を促進し、その一つの機序として*TSC1*の発現抑制を介している可能性が示唆された。miR-92b-3pはccRCCにおいて、新規治療標的となりうる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　王　聡　(Wang Cong)

	（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査　大阪大学教授	野々村 祝夫
	副　査　大阪大学教授	猪阪 善隆
	副　査　大阪大学教授	古井 英一

論文審査の結果の要旨

腎細胞癌の発癌や進展に関与するメカニズムの解明はまだ不十分であり、本研究では淡明細胞型腎細胞癌（ccRCC）に高発現し、標的となりうるmiRNAを探索し、癌の進展に寄与するメカニズムを解明することを研究の目的にした。

マイクロアレイによる網羅的解析でccRCCに高発現する22種類のmiRNA候補を同定した。この22種類のmiRNAのうち、予後との関連を解析するweb tool (SurvMicro) を用いて解析したところ、腎細胞癌患者の全生存率と有意に関連するmiR-92b-3p 1種類のmiRNA候補を同定した。続いてIn-house dataを用いて検証を行い、miR-92b-3p高発現群は有意に全生存率が低かった（P=0.005）。多変量解析においても、miR-92b-3p高発現は全生存率に関連した有意な予後不良因子であった（P=0.018）。機能解析では、miR-92b-3p阻害は細胞の増殖能と浸潤能を抑制した。一方miR-92b-3p過剰発現は、細胞の増殖能、遊走能、浸潤能を促進した。miR-92b-3pが直接制御する標的遺伝子として*TSC1*を同定した。また、miR-92b-3pがTSC1/mTOR pathwayを制御することにより、細胞増殖に寄与する機序を明らかにした。

この論文は腎癌の増悪に関わるmiRNAと細胞増殖に寄与する分子機序を明かにしたものであり、博士（医学）の学位授与に値するものと認めた。