

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	北川敬之
論文審査担当者	主査 田中榮司 副査 塩沢丹里・中山淳
論文題目	Downregulation of the microRNA biogenesis components and its association with poor prognosis in hepatocellular carcinoma (肝細胞癌におけるマイクロ RNA 生合成因子の制御と予後との関連)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】肝癌は本邦あるいは世界的にも癌死亡者数の上位を占め、肝炎ウイルス感染・飲酒・肥満といった背景因子が知られている。しかしその発生や悪性化の詳細な分子機構は完全には解明されていない。本研究では肝癌における miRNA 生合成に関わる遺伝子 (miRNA 生合成因子(miRNA-biogenesis-related (miRBir) gene)) の発現変化とその分子機構、更に肝癌発症に関わる背景因子・臨床病理像・予後との関連について検討を行った。</p> <p>【方法】1998 年 12 月から 2010 年 3 月までの期間に国立がん研究センター中央病院で切除された肝癌検体 47 例 (腫瘍部および背景肝) (HBV 感染:11 例, HCV 感染:16 例, 非ウイルス性 (NBNC):18 例, HBV 既往:2 例)を対象とし、14 種類の miRBir gene (Drosha, Dgcr8, p68, p72, Xpo-5, Dicer, Ago1-4 and Pwll1-4)の発現を quantitative real time-PCR にて測定し、臨床病理因子、予後との関連を解析した。更に肝癌細胞株 (KYN2, HepG2) を用いて、定量 RT-PCR による 5-Aza-deoxycytidine 処理後の miRBir gene の発現変化、miRBir gene のプロモーター領域での bisulfite sequencing による CpG islands の DNA メチル化及び chromatin-immunoprecipitation-PCR (CHIP-PCR) による histone H3 Lysin 27 のトリメチル化 (H3K27me3) について解析した。</p> <p>【結果】14 種類の miRBir gene のうち 7 遺伝子 (Dgcr8, p68, p72, Dicer, Ago3, Ago4, Pwll14) が背景肝に比し腫瘍部で発現が有意に低下 ($p < 0.05$) していた。この 7 遺伝子は HCV 感染検体では有意差を認めず、HBV 感染検体では 3 遺伝子 (p68, p72, Dicer, Ago3) のみで低下を認めたが、NBNC 検体では 6 遺伝子 (Dgcr8, p68, p72, Dicer, Ago3, Ago4) で有意な低下を認めた。NBNC で miRBir gene の発現低下が多く見られたため、ウイルス以外の背景因子が miRBir gene の発現異常に関わる可能性を考え、背景肝における肝癌発症のリスク因子と miRBir gene の関連を検討した。その結果、飲酒 (Pwll1, 2 and 3)・喫煙 (Ago1, Ago2, Ago3 Exportin-5, Dgcr8)・糖尿病 (Ago1)、多中心性腫瘍 (Ago1, Ago3, Ago4, Dicer, Pwll1, Pwll2 and p72) での発現低下が見られた。腫瘍部では p68 と p72 の発現が腫瘍の分化度が下がる程低下していた ($p < 0.01$)。また Dicer, p68 の発現低下は腫瘍再発との関連が示された。miRBir gene の発現低下にエピジェネティックな制御が関与している可能性を考え、肝がん細胞株 (HepG2, KYN2) を用いて検討したところ、CpG islands の DNA メチル化による直接的な制御ではなく、miRNA 生合成に関わる遺伝子の一部が H3K27me3 によりエピジェネティックな制御を受けていることが示された。</p> <p>【結論】miRNA 生合成因子は非ウイルス性の肝癌においてしばしば低下しており、患者の予後に関連するだけでなく、肝癌発症のリスク因子がヒストンのメチル化といったエピジェネティックなメカニズムにより miRNA 発現低下に影響を及ぼす可能性が示唆された。この新しいメカニズムの発見は、今後の肝がんにおける診断や予防、予後の評価につながることを期待される。</p>