

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 高尾 幸司

### 論文題目

MiR-3663-3p Inhibits the Progression of Gastric Cancer Through the CCND1 Pathway

### 論文内容の要旨

近年次世代シーケンサーの出現により20~24ヌクレオチドの内因性の新しい非コードRNAであるマイクロRNA (miRNA) が発見され、数多くの種類が報告されている。miRNAの主な機能は、標的遺伝子のメッセンジャーRNA (mRNA) の発現抑制であり、癌におけるmiRNAの発現変化は、標的遺伝子の機能に応じて腫瘍抑制または促進的に機能し、癌の進行に重要な役割を果たしている。数多くの新たなmiRNAが報告されているが、その機能に関しては未だ不明な点も多い。

今回報告するmiR-3663-3pの胃癌における役割や癌診断への有用性は未だ明らかではなく、胃癌でのmiR-3663-3pの臨床的有用性を検討した。2014年から2017年に当施設で胃切除術を施行した胃癌80例を対象に、組織中のmiR-3663-3p発現と臨床病理因子や予後の関連を解析した。機能解析として胃癌細胞株を用いて増殖アッセイ、遊走・浸潤アッセイ、細胞周期アッセイを施行した。また標的遺伝子候補を公的なデータベースの情報も用いて検索・選出し、PCR法・ウエスタンブロットング法で標的遺伝子としての可能性を検証した。

胃癌組織を用いた検討では、miR-3663-3pの発現は癌部組織において非癌部よりも有意な低下を認め ( $p=0.002$ )、発現低下はpT3-4の進行症例と有意な相関を認めた ( $p=0.049$ )。また無再発生存率は、miR-3663-3pの低発現群で有意に不良であった ( $p=0.016$ )。単変量解析では、静脈浸潤 ( $p=0.025$ )、pT因子 ( $p=0.006$ )、pN因子 ( $p=0.001$ )、pStage ( $p=0.0004$ )、およびmiR-3663-3p発現 ( $p=0.016$ ) がRFSと有意に相関した。一方、多変量解析では、pStageの進行 ( $HR=3.12$ ,  $p=0.003$ )と組織でのmiR-3663-3p発現低下 ( $HR=2.31$ ,  $p=0.029$ ) が、独立した再発予測因子であった。

細胞株を用いた検討では、胃癌細胞株と正常細胞株におけるmiR-3663-3p発現は、胃癌組織での発現と同様に胃癌細胞株でわずかに低発現であったが、有意差を認めなかった。miR-3663-3pが低発現なMKN74とNUGC4を用いた検討では、miR-3663-3pの過剰発現は細胞増殖能および遊走・浸潤能を有意に低下させ、G0/G1期での細胞周期の停止を誘導した。これらの細胞実験の結果をもたらし分子機序を検討するため、miR-3663-3pの標的遺伝子を公的なデータベースであるTargetScanで検索し、細胞周期に関わるCCND1がmiR-3663-3pの標的遺伝子候補として選出された。胃癌細胞株MKN74とNUGC4においてmiR-3663-3pの過

剰発現は、CCND1のmRNAおよびタンパク発現を抑制し、さらにCCND1経路の下流に存在するRbタンパクのリン酸化を抑制することが確認された。これらのことから、miR-3663-3pは胃癌細胞株においてCCND1遺伝子を標的として細胞周期を制御することで、胃癌細胞の悪性能に寄与していることが示唆された。

本研究は、胃癌細胞におけるmiR-3663-3pの機能および組織での発現意義について初めて解析したものである。胃癌細胞においてmiR-3663-3pはCCND1を標的とすることにより、細胞周期の調整を行い腫瘍抑制的に働くとともに、胃癌患者の再発予測マーカーとして臨床的にも有用である可能性が示唆された。