

学位授与番号：甲 1102 号

氏 名：野口 幸子

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 4 月 10 日

学位論文名：

**MicroRNA Gene Expression Signature Driven by miR-9 Overexpression in  
Ovarian Clear Cell Carcinoma**

（卵巣明細胞癌における miR-9 過剰発現がもたらす影響）

学位論文審査委員長：教授 大橋十也

学位論文審査委員：教授 吉田清嗣 教授 矢野真吾

# 論文要旨

氏 名	野口 幸子	指導教授名	岡本 愛光
<p>主論文</p> <p>MicroRNA Gene Expression Signature Driven by <i>miR-9</i> Overexpression in Ovarian Clear Cell Carcinoma</p> <p>(卵巣明細胞癌における <i>miR-9</i> 過剰発現がもたらす影響)</p> <p>Yukiko Noguchi , Nozomu Yanaihara, Misato Saito, Masataka Takenaka, Satoshi Takakura, Kyosuke Yamada, Aikou Okamoto</p> <p>PLOS ONE. Published: September 9, 2016</p> <p><a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162584">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162584</a></p> <p>要旨</p> <p>【背景・目的】</p> <p>これまでの研究からヒトのがんにおける microRNA (miRNA) の関与が報告されている。本研究は、高異型漿液性癌 (HGSC) 及び明細胞癌 (CCC) における癌関連 miRNA 遺伝子発現特性の臨床的および生物学的関連を解明することを目的とした。</p> <p>【方法・結果】</p> <p>インフォームドコンセントを得た卵巣癌患者 27 名 (HGSC 12 症例、CCC 15 症例) の臨床検体に対して、Cancer Focus microRNA PCR plate を用いてリアルタイム RT-PCR 法を行い、癌関連 miRNA 85 種類を含む 88 種類の miRNA の包括的な発現特性を調べた。Gene Cluster 3.0 を用いて階層的クラスタリング分析を用い、BRB-ArrayTools を用いた群間比較分析を行った。階層的クラスタリング分析により、2 つの異なる miRNA 発現群を同定し、各群と臨床病理学的項目との関連を検討したところ組織型において最も有意差を認めた。そこで、HGSC と CCC における miRNA 発現の群間比較分析を行い、CCC で統計学的に有意に過剰発現している 5 つの miRNA (<i>miR-132</i>, <i>miR-9</i>, <i>miR-126</i>, <i>miR-34a</i>, <i>miR-21</i>) を同定した。次に CCC における <i>miR-9</i> 過剰発現の生物学的意義を検討した。CCC において <i>miR-9</i> 発現を抑制すると E-cadherin の発現が上昇し、細胞浸潤能が低下することが分かった。さらに、ルシフェラーゼ レポーターアッセイにより E-cadherin が <i>miR-9</i> の直接の標的分子であることが明らかとなった。</p> <p>【結論】</p> <p>本研究による網羅的癌関連 miRNA 発現分析により、卵巣癌の組織亜型に特徴的な発現プロファイルを同定した。特に、CCC における <i>miR-9</i> 過剰発現は、E-cadherin を介した上皮間葉転換を誘導し、その生物学的特性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。以上より、<i>miR-9</i> は CCC における有力な治療標的と考えられる。</p>			

## 学位論文審査結果の要旨

野口幸子氏の学位申請論文は主論文 1 からなり、主論文のタイトルは「MicroRNA Gene Expression Signature Driven by miR-9 Overexpression in Ovarian Clear Cell Carcinoma」、日本語では「卵巢明細胞癌における miR-9 過剰発現がもたらす影響」と題され、2018 年に PLOS ONE 誌に発表された。同誌のインパクトファクターは 2017 年で 2.766 である。平成 31 年 3 月 27 日、吉田清嗣、矢野真吾両審査委員御出席のもとに公開学位審査会を開催し、野口氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

- ①. 卵巢明細胞癌（CCC）がアジアの女性に多い理由は何か？
- ②. CCC の進行例で抗癌剤耐性なのは miRNA でなくて特定の遺伝子の発現量の変化とか遺伝子の変異で説明できないのか？
- ③. 5 つの miRNA は CCC が高異型漿液性癌（HGSC）より高いがその逆の HGSC の高いものには注目しなかったのか？
- ④. 5 つの miRNA で共通の標的遺伝子はないのか？
- ⑤. miR-9 がカドヘリンを低下させるが、その他の miRNA はカドヘリンを制御しないのか？
- ⑥. miR-21 は Taq Man で q PCR してないが何か理由があるのか？
- ⑦. 検体の品質保証はどの様に行なったのか？ RNA の品質を保障するために内部標準とかは使ったのか？
- ⑧. 細胞株で JHOC9 と OUISE を使った理由は何か？
- ⑨. miR-9 inhibitor とは何か？ miR-9 が本当に下がった実験的証拠はあるのか？
- ⑩. equally contribution だが役割はどのようにわけたのか？
- ⑪. CCC は stage1 が多く、実臨床の結果と離れているがその理由は何か？
- ⑫. CCC の細胞株間で miR-9 の高い低いなどの違いがあるのか？それぞれの細胞で遊走能、浸潤能を見たか？
- ⑬. ウェスタンブロットで miR-9 インヒビターを加えるとビメンチン、フィブロネクチン、MMP が下がるがそのメカニズムは何か？
- ⑭. miR-9 の発現解析が卵巢癌の早期発見に有用である可能性はないか？
- ⑮. 今回の研究で、臨床的に応用可能な知見は何か？
- ⑯. miR-9 の阻害剤が治療に使える可能性はないのか？
- ⑰. 現在まで臨床試験が行なわれた miRNA 阻害薬の副作用は具体的に何か？

上記質問に対して野口氏は適切に回答した。その後、吉田、矢野両教授と慎重に審議した結果、今回の研究は、卵巢癌の新規治療法、診断法に結びつく非常に重要な研究であり、学位申請論文として十分にその価値が認められると結論した。