

授与番号	甲第 1845 号
------	-----------

論文内容の要旨

Genome-wide analysis of microRNA to evaluate prognostic markers in isolated cancer glands and surrounding stroma in high-grade serous ovarian carcinoma

(卵巢高異型度漿液性癌における分離癌腺管および癌周囲間質の microRNA の発現状態)

(佐藤千絵, 刑部光正, 永沢崇幸, 鈴木 拓, 板持広明, 馬場 長, 菅井 有)

(ONCOLOGY LETTERS 20 巻, 6 号, 2020 年 12 月掲載)

I. 研究目的

卵巢高異型度漿液性癌 ovarian high-grade serous carcinoma: OHGSC における癌腺管と癌間質の microRNA (miRNA) の発現状態を網羅的に解析し, 再発に関与する miRNA を特定することとした.

II. 研究対象ならびに方法

1. 対象

2010 年から 2018 年までに岩手医科大学産婦人科学講座で外科的に切除された術前化学療法未施行の OHGSC 30 例を用い, 正常対象として正常卵管組織 3 例を用いた.

2. 検体採取

摘出された卵巢から組織片を採取し, 腺管分離法を用いて, 癌腺管と癌間質を採取した. 同様に正常卵管から正常卵管上皮と卵管間質を採取した.

3. miRNA 解析

1) miRNA array を用いた網羅的解析

腺管分離法を用いて採取した 14 症例の OHGSC の癌腺管および癌間質と, 正常対象としての 3 症例の正常卵管上皮および正常卵管間質を miRNA array (GeneChip[®] miRNA 4.0 Array, Thermo Fisher Scientific, Inc.) を用いて網羅的に解析し, 再発の有無に関与する miRNA を検討した.

2) 妥当性検証

網羅的解析で用いた 14 症例と新たな 16 症例を合わせた, 計 30 症例分の癌腺管および癌間質を用い, 網羅的解析で抽出された, 再発と関連する候補 miRNA について, qRT-PCR による定量的解析を行い, 妥当性検証を行った.

3) 臨床病理学的検討

妥当性検証で得られた30症例の各miRNA発現量からROC曲線を作成し、cut off値を求め、Kaplan-Meier法により予後との関係を検討した。さらにはCox proportional hazards regression modelsを用い、各種臨床病理学的事項を加えた上で予後との関係を検討した。

4. 統計解析

t検定(網羅的解析; $p < 0.01$, 妥当性検証; $p < 0.05$), Kaplan-Meier法(Log rank Test, $p < 0.05$), Cox proportional hazards regression models ($p < 0.05$)を使用した。解析用のソフトウェアとして、TAC4.0 (Thermo Fisher Scientific Inc.), JMP pro 13.0 software package (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.)を使用した。

III. 研究結果

1. OHGSCにおけるmiRNAの発現状態

1) 癌腺管に特異的なmiRNA発現状態

正常卵管上皮と比較し、癌腺管で有意な発現変動を示す330個のmiRNAを同定した。また、無再発症例と比較し、再発症例で有意な発現変動を示すmiRNAを26個抽出した。癌腺管で発現変動する330個のmiRNAと再発症例で発現変動する26個のmiRNAの間で6個のmiRNA (hsa-miR-188-5p, hsa-miR-214-3p, hsa-miR-505-5p, hsa-miR-4455, hsa-miR-6753-3p, hsa-miR-6877-3p) が共通していた。

2) 癌間質に特異的なmiRNA発現状態

正常卵管間質と比較し、癌間質で有意な発現変動を示す324個のmiRNAを同定した。また、無再発症例と比較し、再発症例で有意な発現変動を示すmiRNAを21個抽出した。癌間質で発現変動する324個のmiRNAと再発症例で発現変動する21個のmiRNAの間で7個のmiRNA (hsa-miR-101-5p, hsa-miR-320c, hsa-miR-320d, hsa-miR-320e, hsa-miR-378f, hsa-miR-455-3p, hsa-miR-4429) が共通していた。

2. 抽出されたmiRNAの妥当性検証

癌腺管において再発に関わるmiRNAとして同定された6個のmiRNAのうち、hsa-miR-188-5p, hsa-miR-214-3pは再発症例と無再発症例の間で有意な発現変動を認めた。また、癌間質では同定された7個のmiRNAのうち、hsa-miR-320c, hsa-miR-320d, hsa-miR-378f, hsa-miR-4429は同様の発現変動を認めた。

3. 再発予測因子としての検討

癌腺管で同定されたmiRNAのうちKaplan-Meier法ではhsa-miR-214-3pの低発現が再発に関連していた。Cox proportional hazards regression modelsではFIGO進行期の進行とhsa-miR-214-3pの低発現が再発に関与することが明らかとなった。同様に癌間質では、hsa-miR-320cの低発現が再発に関与することが明らかとなった。

IV. 結 語

OHGSCでは癌腺管におけるhsa-miR-214-3pの低発現と、癌間質におけるhsa-miR-320cの低発現が再発に関連していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐藤 孝 (病理学講座: 機能病態学分野)

副査 講師 庄子 忠宏 (産婦人科学講座)

副査 講師 上杉 憲幸 (病理診断学講座)

卵巣癌は早期発見が困難で、進行例では 5 年生存率も低く、手術や化学療法による集学的治療にも関わらず予後不良な疾患である。再発および予後予測に関わる分子生物学的マーカーの検討はいまだ不十分である。本研究論文では、卵巣癌の約 40 % を占める高異型度漿液性癌(ovarian high-grade serous carcinoma, OHGSC) に注目し、産婦人科学講座で切除された化学療法未施行の OHGSC 30 例より、腺管分離法を用いて検体採取し、癌腺管と癌間質における OHGSC の進展、再発に関わる microRNA(miRNA) の発現状態を網羅的に解析した。再発に関わる miRNA として、癌腺管では 6 個の、癌間質では、7 個の miRNA が同定された。さらに統計学的解析により、癌腺管での hsa-miR-214-3p および癌間質での hsa-miR-320c の低発現が OHGSC の再発に関連していることを明らかにした。

本論分は、OHGSC の予後や再発を予測する上で、貴重なデータを提供しており、学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

卵巣癌の病理、分子生物学的発癌メカニズムに加えて、腺管分離法を用いた分子生物学的手法の詳細について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識と研究者としての指導能力を認めた。また、学位論文の作成にあたり、剽窃・盗作等の研究不正が無いことも確認した。

参考論文

- 1) Immunohistochemical analysis of the epithelial to mesenchymal transition in uterine carcinosarcoma (子宮癌肉腫における上皮間葉転換関連蛋白の免疫組織学的検討) (刑部光正, 他 8 名と共著)
International Journal of Gynecological Cancer, 29 巻, 2 号(2019): p277-281.
- 2) Mesenteric extraovarian Sertoli-Leydig cell tumor without *DICER1* hotspot mutation: a case report (小腸間膜に発生した中分化型 Sertoli-Leydig cell tumor の一例腫瘍: 症例報告) (刑部光正, 他 9 名と共著)
Diagnostic Pathology, doi:10.1186/s13000-019-0805-5.