

## 田中 洋平 氏の学位論文審査の要旨

### 食道癌における血中 **exosomal microRNA** の臨床的意義に関する研究 (Clinical significance of serum exosomal micro RNA in human esophageal squamous cell carcinoma)

エクソソーム(exosome)は T 細胞、血小板、上皮細胞など多様な細胞から細胞外に分泌される直径 40~100nm の蛋白二重膜をもつ小胞体である。血液、尿、腹水、消化液などの様々な体液や組織・細胞培養液中に存在し、microRNA(miR)をはじめとした small RNA を内包している。Exosome を介した miR の生体内の移動は、正常細胞間および臓器間の情報伝達を担うのみならず、発癌や転移にも関与することが明らかにされており、exosome が内包する miR が多様な病態のバイオマーカーとして利用できる可能性が検証されつつある。申請者らはこれまでに食道癌と miR-21 との関連について報告してきたが、本研究では、食道癌患者と非癌患者の血清中の exosome を抽出し、内包する miR-21 の発現について比較検討がなされた。

食道扁平上皮癌と診断された治療前の 51 例、および同時期の非癌症例(無症候性胆石症やヘルニアなどの良性疾患) 41 例を対象とした。2009 年 10 月より収集した各血清から exosome が抽出され、内包する miR を抽出して、定量的 RT-PCR(Taqman 法)を用いて解析がなされた。その結果

Exosome を抽出した後の上澄み内には miR-21 の発現は殆ど認めなかった。また血清中に存在する miR-21 と exosome 中に存在する miR-21 との関連については、明らかな相関は認めなかった。次に食道癌/非癌症例について exosome 中の miR-21 の発現を比較したところ、食道癌で発現が有意に高かった( $P < 0.001$ )。さらに、exosome の分泌や運搬に影響しうる炎症反応を除くため血液検査上 CRP 陰性( $CRP < 0.3$ )の症例のみで検討したところ、食道癌症例 30 例/非癌症例 30 例においても食道癌で発現が有意に高値を示した( $P < 0.01$ )。次に、食道癌症例について miR-21 高発現と低発現の 2 群に分け臨床パラメーターとの関連を解析したところ、miR-21 高発現と、高年齢、T stage 進行例、リンパ節転移陽性、遠隔転移陽性、cStage 進行例との間に有意な相関を認めた(いずれも  $p < 0.05$ )。加えて、血清内 exosome より抽出した miR を用いて miR array を行った結果、miR-205 が進行した stage の食道癌で高値であることが新たに明らかになった。一方、食道癌細胞株に血清 exosome を添加すると増殖速度が亢進した。

以上より、exosome は血液をはじめとして臨床の現場で比較的容易に採取できる検体から分離することが可能であることが明らかになった。また血清から抽出した exosome 中の miR-21 の発現が食道癌において高いことから、食道癌診断への応用の可能性が示された。

審査では、1) exosome の回収方法、2) 凍結融解に対する exosome の安定性、3) 癌化進展過程における exosome の役割、4) exosome 分泌の制御機構、5) 食道癌組織中ならびに exosome 中の miR-21 発現の関連、6) 食道癌早期における診断的意義、7) exosome への miR の取り込み機構、8) 癌腫による exosome 分泌動態の相違、9) 癌組織と正常組織における exosome の働きの相違、10) miR-205 の標的遺伝子、11) 食道癌細胞株の細胞増殖に対する exosome の影響についての解釈、12) miR-21 発現の制御機構、13) 従来の内視鏡検査や病理学的解析に対する exosome 測定 of 優位性など、さまざまな質疑応答がなされ、申請者より概ね適切な回答と考察が得られた。

本研究は食道癌患者における血清 exosome 中 miR-21 測定の臨床的意義を明らかにし、食道癌の早期発見や再発診断のためのバイオマーカーとしての有用性を示唆するものとして、高く評価された。

審査委員長 消化器内科学

