

## 中原 修氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) の癌化のメカニズム : マイクロ RNA-101 と EZH2 の関連から  
(Carcinogenesis of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas (IPMN) : Loss of microRNA-101 (miR-101) promotes overexpression of histone methyltransferase EZH2)

膵癌は予後不良の消化器癌に位置づけられ、その前癌病変である膵管内乳頭粘液性腫瘍 (膵 IPMN) の発生機序および悪性化への分子メカニズムを理解することは、膵癌の診断と治療、そして予防に貢献すると考えられる。ポリコムタンパク質複合体を構成する Enhancer zeste of homolog 2 (EZH2) について、その発現増加は複数の癌種において報告されており、悪性度や予後不良との相関が認められている。一方、microRNA (miRNA) は約 20 塩基長の低分子 RNA であり、標的遺伝子産物の発現抑制に働くことが知られている。本論文では、膵 IPMN における EZH2 の発現増加の有無、EZH2 の制御における miRNA の関与について解析した。

ヒト膵癌細胞株 (8 種類) において、EZH2 の mRNA とタンパク質の発現をリアルタイム PCR 法とウェスタンブロット法を用いて検討した。さらに、膵癌細胞株を用いて、EZH2 を標的候補とする miR-101 の強制発現およびアンチセンスによる阻害を行い、EZH2 の発現に対する影響を調べた。さらに、膵 IPMN の外科切除検体 (癌部 19 例、非癌部 51 例) を用いて、EZH2 の発現を免疫組織染色法で解析し、また、レーザーマイクロダイセクション法を用いて、癌部および非癌部における RNA を抽出して、リアルタイム PCR 法で miR-101 の発現を比較検討した。

結果として、解析した膵癌細胞株において、EZH2 の mRNA およびタンパク質の発現が検出された。miR-101 低発現の膵癌細胞株 MIA PaCa-2 に miR-101 を強制発現させた場合、EZH2 タンパク質の有意な発現低下を認めた。一方、miR-101 高発現の膵癌細胞株 PK-8 で miR-101 を阻害した場合、EZH2 タンパク質の発現増加を認めた。膵 IPMN の切除検体を用いた解析で、非癌部 (腺腫部) と比較して、癌部 (浸潤癌部) において、EZH2 染色の高い陽性率および miR-101 の発現低下を認めた。以上の結果から、miR-101 の発現低下によって EZH2 タンパク質の発現増加が引き起こされ、この機序が膵 IPMN の発生や悪性化に関わる可能性が示唆された。

審査において、(1) 膵 IPMN 解析における膵癌細胞株の妥当性 ; (2) EZH2 と miR-101 に着目した理由 ; (3) miR-101 の発現解析法 ; (4) miR-101 の強制発現と阻害の方法とその効率 ; (5) miR-101 の強制発現と阻害による細胞形質の変化 ; (6) KRAS 変異と EZH2 高発現との関係 ; (7) EZH2 高発現と生命予後の関係 ; (8) 浸潤性膵癌における IPMN 経由の割合 ; (9) 癌における miR-101 の発現低下の機序 ; (10) 膵液等での miR-101 のバイオマーカーとしての意義 ; (11) 膵 IPMN の発生要因、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは適切な回答が得られた。

本論文は、miR-101 の発現低下によって EZH2 タンパク質の発現増加が引き起こされ、この機序が膵 IPMN の発生や悪性化に関わる可能性を明らかにしたものであり、膵管内乳頭粘液性腫瘍の新たな癌病態を示唆した点で高く評価される。

審査委員長

細胞医学担当教授

中尾 祐善

審査結果

学位申請者名：中原 修

専攻分野： 消化器外科学

学位論文名：膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPMN）の癌化のメカニズム：マイクロ RNA-101 と EZH2 の関連から

(Carcinogenesis of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas (IPMN) : Loss of microRNA-101 (miR-101) promotes overexpression of histone methyltransferase EZH2)

指導教官名： 馬場 秀夫 教授

判定結果：

⓪

不可

不可の場合： 本学位論文名での再審査

可

不可

平成 24 年 / 月 23 日

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 光善

審査委員 消化器内科学担当教授

伊藤 隆

審査委員 機能病理学担当教授

伊藤 隆明

審査委員 代謝内科学担当教授

荒木 栄一