

| | | | | |
|---------|--|--------|-------|--|
| 氏名(本籍) | なが い けんたろう 永井健太郎(茨城県) | | | |
| 学位の種類 | 博士(医学) | | | |
| 学位記番号 | 博甲第6619号 | | | |
| 学位授与年月日 | 平成25年3月25日 | | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | | |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 | | | |
| 学位論文題目 | Differential expression profiles of sense and antisense transcripts between HCV-associated hepatocellular carcinoma and corresponding non-cancerous liver tissue (C型肝炎ウイルス関連肝細胞癌とその非癌部組織間のセンス・アンチセンス転写産物の発現解析) | | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 兵頭一之介 | |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士(医学) | 福田綾 | |
| 副査 | 筑波大学講師 | 博士(医学) | 福田邦明 | |
| 副査 | 筑波大学助教 | 博士(医学) | 川口敦史 | |

論文の内容の要旨

(目的)

肝細胞癌は予後不良な疾患である。マイクロアレイ技術の進歩により遺伝子研究が進み、様々な疾患で遺伝子を用いたバイオマーカーの探索の研究が行われており、肝細胞癌においてもメッセンジャー RNA、マイクロ RNA に関して網羅的な遺伝子研究がなされている。しかしながら、現時点では肝細胞癌の発癌、予後などを規定する遺伝子異常は未だ明確にされておらず、臨床応用もされていない。本研究ではアンチセンス転写産物に着目し、肝細胞癌におけるセンス/アンチセンスの網羅的遺伝子解析を行い、癌の発育・組織型に関連する分子の検索・同定することを目的とした。

(対象と方法)

筑波大学附属病院で肝切除手術が行われた患者の内、C型肝炎ウイルス陽性肝細胞癌15例の癌部、6例の非癌部より RNA を抽出した。抽出した RNA にランダムプライミング法でラベリングを行った。ラベリングを行った RNA を独自に設計したセンス/アンチセンス RNA の発現解析が同時に可能なカスタムマイクロアレイ (44K) を用いて、癌関連センス/アンチセンス RNA についてマイクロアレイ解析を行った。解析は GeneSpring GX を用いて行った。

(結果)

RNA の遺伝子発現情報を解析することにより、癌部と非癌部において、有意差 ($P < 0.001$) をもって発現の上昇または低下のある遺伝子を 186 遺伝子同定した。186 遺伝子の内、癌特異的センス RNA は 161 遺伝子であり、その中には過去に肝細胞癌のマーカーとしての関連を報告されているものも確認された。癌特異的アンチセンス RNA は 25 遺伝子であり、18 遺伝子が癌部で発現が亢進しており、残りの 7 遺伝子の発現は抑制されていた。これら 25 のアンチセンス RNA に関してクラスター解析を行ったところ、癌部と非癌部の明確な分類が可能であった。さらに主成分分析を行ったところ、アンチセンス RNA に関しては第 1 主成

分に79.1%、第2主成分に4.2%の変動がそれぞれ要約された。次に癌部において予後と強く関連していると考えられている、組織型による遺伝子発現の違いについて検討した。対象はC型肝炎ウイルス陽性肝細胞癌15例で、その組織型による内訳は高分化型5例、中分化型7例、低分化型3例である。異なる組織型間での遺伝子発現で、有意差 ($P < 0.001$) のある遺伝子を114遺伝子同定した。その内、センスRNAは71遺伝子であり、アンチセンスRNAは43遺伝子であった。まず有意差のあった71のセンスRNAで15症例についてクラスタリング解析を行ったところ、1例のミスマッチを認めた。このミスマッチを認めた症例は組織型が中分化であったにも関わらず、高分化のクラスターに分類された。次に発現に有意差のあった43のアンチセンスRNAでクラスタリング解析を行うと、ミスマッチは無くそれぞれの組織型毎に分類され、明確な層別化が可能であった。

(考察)

肝細胞癌はメッセンジャーRNA、マイクロRNAの癌特異的な遺伝子発現変化を認めることが報告されている。しかしながらアンチセンスRNAに関する報告はない。その一方で、アルツハイマー病や白血病、大腸癌、乳癌においてはアンチセンスRNAに関する報告がなされている。本研究ではC型肝炎ウイルス関連肝細胞癌においてもアンチセンスRNAの発現変化が認められた。発現変化のあったアンチセンスRNAの中にはセンスRNAで肝細胞癌において発現変化のあることが報告されているものも認められたが、今回の検討では確認できないものもあった。この原因としては症例数、感染ウイルスの違いなどがあると考えられた。

アンチセンスRNAの機能に関してはまだ多くのことがわかっておらず、メッセンジャーRNAの働きを安定化しているという報告や、逆に抑制しているとの報告がある。今回の検討でもセンスRNAとアンチセンスRNAの発現変化のパターンが正の相関関係であるもの、負の相関関係であるものが確認された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

肝細胞癌におけるアンチセンスRNAの発現状態を初めて解析した研究で、癌と非癌の区別や組織型の推定は可能という結果が得られている。しかし、センスRNAを用いる場合との違いはあるのか、臨床的有用性はあるのか、それらの検証のためには多数の症例数が必要、等、今後の課題は多いと考えられる。

平成25年1月15日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。