

# Upregulation of microRNA-31 associates with a poor prognosis of malignant pleural mesothelioma with sarcomatoid component

松本, 慎二

<https://hdl.handle.net/2324/1500545>

---

出版情報：九州大学, 2014, 博士（保健学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名：松本 慎二

論文題名：Upregulation of microRNA-31 associates with a poor prognosis of malignant pleural mesothelioma with sarcomatoid component  
(肉腫型成分を含む悪性胸膜中皮腫における予後不良因子としての microRNA-31 の過剰発現)

区 分：甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【背景・目的】

悪性胸膜中皮腫（MPM: malignant pleural mesothelioma）は壁側胸膜の中皮細胞より発生する悪性の高い腫瘍であるが、その予後は極めて不良で、効果的な治療法が確立されておらず、その平均生存中央値は9～17ヵ月と云われている。悪性中皮腫の予後の悪さの要因の一つとして、早期発見の困難さが挙げられる。形態診断において、炎症などに起因する非腫瘍性病変である反応性中皮細胞過形成との鑑別診断は困難な事が多い。なぜなら、両者の鑑別において十分な感度と特異度をもつ免疫学的バイオマーカーが存在しないためである。また、病理診断においては良悪の判断のみならず、組織型の確定も重要である。なぜなら MPM の最も一般的な治療法である胸膜肺全摘術（Extrapleural pneumonectomy: EPP）は、病変が広範囲まで進展していない早期の上皮型中皮腫のみが適応されるためである。

本研究では、近年数多くの腫瘍性病変においてその発現動態に特異的な変化が認められる microRNA (miR) に着目し、MPM における microRNA-31 (miR-31) の発現解析を行い、その病理診断および予後推定のバイオマーカーとしての有用性について検討を行った。

### 【検体と方法】

25例の悪性中皮腫患者および対象としての20例のブラに関連した反応性中皮細胞過形成患者のFFPE（ホルマリン固定パラフィン埋蔵）組織標本を用いた。本研究は福岡大学ならびに九州大学の倫理委員会の承認を得ている。FFPE 標本から腫瘍組織を90%以上含むようにマクロダイセクションを行い、Total RNA を抽出した。次に Taq-Man miRNA reverse transcription kit ならびに Taq-Man miRNA-specific PCR primer を用いて qRT-PCR 法による miR-31 の発現解析を行った。発現量補正として内在性コントロール遺伝子である RNU6B(U6) を用い、発現量の解析には  $\Delta C_T$  法を用いた ( $\Delta C_T = C_{T(miR-31)} - C_{T(RNU6B)}$ )。

### 【結果】

MPM における miR-31 の発現レベルの平均値は反応性中皮細胞過形成の平均値と比較して明らかに低かった ( $P < 0.01$ ) が、その発現にはばらつきが見られたため、反応性中皮細胞過形成における平均値および標準偏差から中皮腫25例を低発現群 ( $n=16$ )、正常群 ( $n=4$ )、高発現群 ( $n=5$ ) の3群に分類した。すると、高発現群の5例中4例 (80%) が肉腫型成分を含む MPM (二相型および肉腫型) であった。続いて予後解析を行った結果、この高発現群の全生存期間の平均は5.3ヶ月で、正常群 (30.1ヵ月) と低発現群 (27.3ヵ月) と比べて有意に短かった ( $P < 0.001$ )。一般的

に肉腫型成分を含む MPM は上皮型の MPM と比べて予後が悪いことが知られているため、miR-31 の高発現が独立した予後不良因子になり得るかの検証のために、肉腫型成分を含む 9 例に焦点を絞り、miR-31 の発現レベルと予後の関係を解析した。その結果、miR-31 が高発現を示した 4 例は、それ以外の 5 例と比べて明らかに全生存期間が短かった（2.3 ヶ月 vs 8.7 ヶ月、 $P=0.0027$ ）。

#### 【考察】

本研究では、肉腫型成分を含む中皮腫における miR-31 の発現レベルと患者予後に明らかな逆相関がある事を確認した。miR-31 は 9 番染色体の短腕 21.3 に存在し、多くの癌腫でその発現異常が見られ、発癌に関連の深い重要な microRNA である。miR-31 の標的遺伝子の一つである large tumor suppressor 2 (LATS2) 遺伝子は癌抑制遺伝子で、MPM で高頻度に異常をきたしている Merlin-Hippo シグナル経路の一つの構成酵素である。またこの Merlin は 40～50% の MPM で変異が見られる NF2 遺伝子の転写産物である。MPM 細胞株を用いた導入実験や機能解析まで行っていないため、仮説の域を脱し得ないが、我々は、miR-31 の高発現が LATS2 の不活性化による Merlin-Hippo シグナル経路の完全な破綻をきたし、MPM の増殖と更なる予後不良因子として関与しているのではと考えた。

今回の我々の結果では、反応性中皮細胞過形成群に比べて MPM 群では明らかに miR-31 は低発現を示していたが、その増減は一定でなく発現レベルにばらつきが見られた。この結果は悪性中皮腫細胞株を用いた過去の報告とは異なるものであった。その原因の一つとして、腫瘍組織中における腫瘍細胞以外の細胞（線維芽細胞や血管内皮細胞など）由来の microRNA の混入が挙げられる。悪性腫瘍の環境下では、癌細胞以外の周囲の細胞でも遺伝子学的変化が見られるとの報告があり、この現象が細胞株による実験結果と実際の臨床材料での結果の不一致に影響を与えているものと考えられる。これらの問題を解決するためにも、癌細胞のみをシングルセル単位で抽出できるレーザーマイクロダイセクションによるサンプリングや、microRNA の存在を可視化できる in situ hybridization 法を応用した組織内局在の証明を含めた研究が今後の課題と考える。

#### 【結語】

MicroRNA-31 が高発現を示す悪性胸膜中皮腫は予後不良で、肉腫型成分を含む組織型であった。本研究は、FFPE サンプルを用いた microRNA-31 の解析が MPM 診断の組織型ならびに予後推定因子としての有用なバイオマーカーになり得ることを示した。