



ARID1A deficiency in EBV-positive gastric cancer is partially regulated by EBV-encoded miRNAs, but not by DNA promotor hypermethylation

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2021-04-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 加瀬, 晃志 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000347

論文内容要旨

しめい 氏名	かせ こうじ 加瀬 晃志
学位論文題名	ARID1A deficiency in EBV-positive gastric cancer is partially regulated by EBV-encoded miRNAs, but not by DNA promotor hypermethylation. EBV 関連胃癌における ARID1A 遺伝子発現は、DNA プロモーター高メチル化ではなく EBV-miRNA によって一部制御されている
<p>【背景】SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体の一つである ARID1A 遺伝子は癌抑制遺伝子であり、胃癌の約 20-30%に変異（ほとんどが失活型変異）を認めるドライバー遺伝子でもある。DNA ミスマッチ修復機構欠損（dMMR）胃癌と EBV 関連胃癌においては同頻度の ARID1A 蛋白の発現低下を認めるが、dMMR 胃癌での ARID1A 蛋白発現低下例はほとんどの例で ARID1A の失活型変異を伴うのに対し、EBV 関連胃癌では変異を伴わないことが多い。本研究では、EBV 関連胃癌に特徴的な高メチル化や EBV-miRNA 発現といったエピゲノム異常が ARID1A の発現に与える影響について検討した。</p> <p>【方法】①EBV 関連胃癌の各遺伝子のメチル化状態と発現を NCBI GEO と TCGA データベースからメチレーションアレイと発現アレイデータを抽出して解析した。②データベースから ARID1A を標的としうる EBV-miRNA を抽出し、その EBV-miRNA による ARID1A 発現制御を胃癌細胞株にて Real-time PCR 法とウェスタンブロッティング法を用いて実験的に評価した。また、その EBV-miRNA が ARID1A の 3' UTR に直接結合するか否かをレポーターアッセイ法にて確認した。③当科の EBV 関連胃癌切除検体（ホルマリン固定パラフィン包埋切片）での、②で同定した EBV-miRNA の発現量を Real-time PCR 法にて調べた。同時に ARID1A の蛋白発現と遺伝子変異をそれぞれ免疫染色法と次世代シーケンス法にて行い、得られた EBV-miRNA の発現量と比較検討した。</p> <p>【結果】in silico 解析にて、ARID1A は EBV 感染にてもメチル化されず、その mRNA 発現も低下しないことが確認された。さらに EBV 関連胃癌ではその他の胃癌と比べて ARID1A mRNA 発現の低下は認められず、その蛋白の発現低下は転写後修飾によるものが示唆された。そのため、ARID1A を標的としうる 2 種類の EBV-miRNA(miR-BART11-3p と miR-BART12)を胃癌細胞株(MKN7 と NCI-N87)で過剰発現させた結果、データベース解析同様に ARID1A mRNA は抑制されないにもかかわらず、その蛋白の発現低下が認められた。さらにレポーターアッセイ法にてそれらの EBV-miRNA が直接 ARID1A の 3' UTR に結合することを確認した。最後に EBV 関連胃癌切除検体において EBV-miRNA が高発現している例では、ARID1A の蛋白発現が減弱し、かつ、ARID1A の遺伝子変異は認められなかったことを確認した。</p> <p>【結論】ARID1A 遺伝子変異が認められない EBV 関連胃癌においては、EBV-miRNA(miR-BART11-3p と miR-BART12)が ARID1A の発現を制御していることを見出した。</p>	

学位論文審査結果報告書

令和 3 年 2 月 5 日

大学院医学研究科長 様

下記の通り学位論文の審査を終了しましたので報告いたします。

【論文審査要旨】

氏 名： 加瀬晃志

学位論文題名： ARID1A deficiency in EBV-positive gastric cancer is partially regulated by EBV-encoded miRNAs, but not by DNA promotor hypermethylation (EBV 関連胃癌における ARID1A 遺伝子発現は DNA プロモーター高メチル化ではなく EBV-miRNA によって一部制御されている)

本研究は EBV 関連胃癌を材料に miRNA などエピジェネティックな作用が ARID1A 遺伝子の発現を制御していることを検証したものである。ARID1A を標的とする EBV-miRNA を過剰発現させた胃癌細胞株では mRNA は抑制されずに蛋白発現が低下すること、また EBV-miRNA が直接 ARID1A の 3' UTR に結合することや、EBV-miRNA 高発現臨床サンプルで ARID1A 遺伝子の変異なく ARID1A 蛋白発現低下たことを示すなど、学位論文としての新規性を有している。要旨、論文の構成、引用図表の質は基礎的な研究報告としてほぼ的確と判断する。

学位論文審査会では、ARID1A 遺伝子の変異様式、EBV-miRNA sequence の標的、EBV 関連胃癌に対する標的治療の可能性等への質問にも適切な回答が得られた。また、本論文の掲載誌である *Carcinogenesis* が学位論文審査に関し適正な学術誌であることを確認した。

ウイルス感染を背景にエピジェネティクス異常が発癌課程に重要な役割を果たしている EBV 関連胃癌は、特殊な胃癌サブタイプとして今後の基礎研究の発展が期待されている。本研究は EBV 関連胃癌の分子生物学的特徴について興味ある新知見を示し、また将来的に新たな標的治療法の開発への発展も期待される有意義な研究成果である。

以上より、本論文は本学学位授与に価することを認めるものである。

論文審査委員	主査	乳腺外科学講座	大竹 徹
	副査	放射線腫瘍学講座	吉本由哉
	副査	基礎病理学講座	杉本幸太郎