

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

辻 顕介

主論文の題目

題 目 胃癌由来の胃液エクソソームの機能分子の解析

および

掲載誌 聖マリアンナ医科大学雑誌 2018;46:111-118

掲載誌・審査委員名

主査 遊道 和雄

副査 池森 敦子

副査 藤井 亮爾

[論文の要旨・価値]

（背景・目的） 胃癌は癌部位別死因の上位にあり、胃癌の分子病態に基づく低侵襲性の早期診断・胃癌リスク診断のためのバイオマーカー開発の臨床的意義は高い。学位申請者は、細胞から分泌される脂質二重膜の細胞外膜小胞（エクソソーム；直径 30-100nm）が胃液の酸性環境でも安定していることに注目し、胃癌患者の胃液からエクソソームを抽出し、それに含有されている microRNA および DNA について胃癌に伴う機能変化の有無を明らかにすることで、胃癌の早期診断や発癌リスク診断法の開発の糸口が得られると仮説した。また、病原蛋白(cytotoxin-associated gene A (CagA)を発現する *Helicobacter Pylori* (*H. pylori*) に感染すると、胃癌をはじめとする胃粘膜病変を高率に発症することが報告されていることから、本研究では胃酸環境でも安定な胃液エクソソームを検体として、*H. pylori* 由来 CagA の胃癌のバイオマーカーとしての有用性を検討することとしている。

（対象・方法） 申請者らは、10 例の胃癌患者（*H. pylori* 現感染者 5 例、*H. pylori* 既感染者 5 名）から内視鏡的治療または外科的治療の直前に 5 ml の胃液を採取、また、*H. pylori* 感染陰性 5 例の健常者からも胃液を得て、超遠心法を用いてエクソソームを抽出して microRNA および DNA 機能解析を施行した。胃液からのエクソソーム抽出の確認は、透過型電子顕微鏡像とエクソソームマーカーである CD9 に対する抗体を用いた Western blot 法により解析した。既報に則ってエクソソームから RNA と DNA を抽出し、①胃癌手術検体では発現低下が示唆されている microRNA (miR-34b, -34c) の発現度は、胃液エクソソームではどうかを解析、② 手術検体における miR34b/c 発現低下の一因と考えられている DNA メチル化について、胃液エクソソーム検体ではどうかを確認し、③ 胃癌との関連が示唆されている CagA がエクソソーム内に含有されるか否かを *H. pylori* CagA 抗体を用いた Western blot 法により解析した。

（結果・考察） i) 胃癌患者および健常者の胃液から超遠心法によってエクソソームを抽出できること、ii) 胃液エクソソーム中の miR-34b/c 発現は、胃癌患者群が健常者群に比べ有意に低値であること、iii) これら miR-34b/c の DNA メチル化は、胃癌患者群が健常者群に比べて有意に高値であることが明らかになった。これらのことから、申請者は胃液エクソソーム中の microRNA (miR-34b/c) 発現度が胃癌のバイオマーカーとしてのポテンシャルを有し、かつ、手術検体を用いた研究で報告されている「DNA メチル化による miR-34b/c の発現低下」と同様の機序が胃液エクソソームでも見られる可能性を考察した。さらに、胃癌はじめ胃粘膜病変の発症に関与することが知られている CagA の胃液（エクソソーム）における発現は、*H. pylori* 陽性例のみにみられることを初めて確認している（これまでは、胃癌患者の血液エクソソームに CagA 発現が確認されてきたが、病変の存する胃・胃液での確認は本論文が初めてとのことである）。本研究は、胃液エクソソームの機能分析が *H. pylori* 感染を含めた胃癌の病因病態の解明およびバイオマーカー開発に資する重要な知見を提供したもので、学位論文に値すると評価した。

[審査概要] 学位審査は、平成 31 年 1 月 24 日に主査・副査および数名の陪席者を伴って、申請者による約 30 分間の発表の後、審査員から研究目的、実験方法の詳細、研究データの解釈、考察の妥当性、臨床的意義および今後の展望についての 20 分間の質疑応答により行なわれ、申請者は懇切丁寧に明確に回答し、さらに専門性を広げていきたいという意欲が感じられた。英文読解力は、指定した英文文献の和訳によって評価し、十分な能力があると判断した。以上より、学位授与に値すると判定した。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 研究遂行能力は十分あり、当該研究領域の今後の課題の検討、さらには将来展望についても明確な考えを示すことができ、高い研究能力、専門知識と語学力を十分に有するものと判断した。