

# 庄司寛之 論文内容の要旨

主 論 文

MicroRNA-130a is highly expressed in the esophageal mucosa of esophageal achalasia.

食道アカラシア患者の食道粘膜において microRNA130a 発現は亢進している

庄司寛之、磯本一、吉田亮、池田晴夫、南ひとみ、神田努、卜部繁俊、松島加代子、竹島史直、中尾一彦、井上晴洋

(Experimental and Therapeutic Medicine • in press 2016 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員：中尾一彦教授)

## 【緒 言】

食道アカラシアは lower esophageal sphincter (LES) の弛緩不全により食道運動異常をきたす疾患であり、食道癌の高リスクの1つに挙げられる。近年、食道アカラシアに対する根治術として内視鏡的筋層切開術 (Per-Oral Endoscopic Myotomy ; POEM) が低侵襲で根治性の高い治療法として確立されたが、一方で病態は未だに不明な点が多く、食道発癌に至る過程の解明が望まれる。

今回我々は食道アカラシア患者の食道粘膜に特異的な microRNA(miR)を同定することを目的とした。また、POEM 前後の miR 発現量の推移についても検討した。

## 【対象と方法】

食道アカラシア患者の中部食道粘膜より内視鏡下生検にて採取された 29 検体、対照として、健常人食道の同部位から食道粘膜を採取した。生検サンプルから RNA を抽出し、アカラシアの食道粘膜に特異的な miR の発現プロファイルを探索するために、microarray に供した。健常人に比し特有の発現パターンを呈する miR を選択し、

real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) にて定量的に解析した。アカラシア食道粘膜特異的 miR の発現と、臨床的背景、罹病期間、生活歴、拡張型や拡張度等との相関性を調べた。また、POEM 前後での miR を定量可能であった 9 検体についてはその推移についても検討した。健常人と比較してアカラシア食道粘膜に特異的な遺伝子発現について調べるために cDNA array も行った。

## 【結 果】

食道アカラシア患者の男女比は 14 : 15、年齢および罹病期間の中央値はそれぞれ 46 歳、60 ヶ月、喫煙歴 有 : 無=13 : 15 (不明 1)、拡張型 直線型 : Sigmoid 型 = 23 : 6、拡張度 I : II : III=7 : 22 : 0 であった。

Microarray の結果、miR361-5p および miR130a がアカラシア患者において発現が高かった。これらの miR を RT-PCR にて定量解析を行ったところ、miR130a はアカラシア群が対照群よりも有意に発現が亢進していることが確認された ( $P < 0.0001$ )。miR130a 発現と罹病期間、拡張型、拡張度の相関性は明らかでなかったが、miR130a 発現量は、男性 ( $P = 0.0027$ )、喫煙者群 ( $P = 0.0415$ ) で有意に発現が高かった。多変量解析では喫煙と miR130a の発現量に有意な相関が認められた ( $P = 0.0084$ )。POEM 前後での miR130a 発現量には有意な変動は認められなかった。cDNA array の結果、MTMR10 (myotubularin related protein 10) と WNK1 (WNK lysine deficient protein kinase 1) が miR130 の標的遺伝子候補として挙げられた。MTMR10 の mRNA 発現量 (RT-PCR) は対照群と比較してアカラシア群において有意に減少していたが ( $P = 0.0442$ )、miR130a の発現との有意な相関は認められなかった。

## 【考 察】

今回の研究では、食道アカラシア患者の食道粘膜において miR130a の発現は亢進し、喫煙は発現に関連する可能性が示唆された。喫煙と miR の関連性は報告されているが、今回の研究においては、健常人の非喫煙者、喫煙者、食道アカラシア患者の非喫煙者、喫煙者間での比較が出来ておらず、更なる症例の蓄積が必要と考えられた。MiR130a は多くの癌腫において重要な役割を果たしていることが報告されており、腫瘍の血管新生抑制因子である growth arrest-specific homeobox (GAX) や homeobox A5 (HOXA5) の発現を低下させることによって血管新生を制御していると考えられている。本研究においても RT-PCR を用いて食道アカラシアにおける GAX や HOXA5 の発現について調べた。結果、HOXA5 はアカラシア群において control 群より有意に発現が低下していたが ( $P = 0.0071$ )、miR130a の発現とは有意な相関は認められなかった。MiR130a が血管新生抑制因子である HOXA5 を発現低下させることによって発癌を促す可能性は考えられたが、POEM 前後において miR130a の発現に有意な変化はなく、POEM は食道アカラシア患者の発癌の危険性を完全に予防することは困難かも知れない。cDNA array の結果、miR130a の標的遺伝子候補として挙げられた MTMR10 については未だ不明な点が多く、更なる症例の蓄積、機序の解明が望まれる。MiR130a と MTMR10 は食道アカラシアの biomarker となりうると考えられた。