

## 論文の内容の要旨

氏名：山 岡 敏

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：腎ラブドイド腫瘍における Exosomal miR-214-3p の新規バイオマーカーとしての可能性

＜背景・目的＞腎ラブドイド腫瘍(Rhabdoid tumor of the kidney; RTK)は、極めて稀で予後不良な小児腎腫瘍である。RTK には特異的なバイオマーカーが存在しないため、他の小児腎腫瘍や、副腎を好発部位とする神経芽腫との鑑別は困難である。適切な初期診断や再発の早期発見による予後改善のため、RTK の新たなバイオマーカーが強く求められている。ほとんどの細胞から分泌され、血液や尿などの体液中に観察される細胞外小胞である Exosome に内包される microRNA (exosomal miRNA)の発現様式には、exosome を放出した細胞の状態が反映され、低侵襲かつ簡便に測定できることから、悪性腫瘍の新たなバイオマーカーとして注目されている。しかし、RTK に関わる exosomal miRNA についての報告はない。本研究では、細胞株を用いて RTK 特異的 exosomal miRNA の候補を同定し、さらに、候補 exosomal miRNA が RTK モデルマウスの血清から検出可能かを検討することにより、候補 exosomal miRNA の RTK のバイオマーカーとしての可能性を評価することを目的とした。

＜対象と方法＞ヒト RTK 細胞株(WT-CLS1、G401)およびコントロールのヒト正常胎児腎由来細胞株(HEK293T)の培養上清から exosomal RNA を抽出し、次世代シーケンシングによる miRNA の網羅的発現解析を行い、RTK 特異的 exosomal miRNA の候補を絞り込んだ。次に、候補 exosomal miRNA について qRT-PCR を行い、ヒト神経芽腫細胞株(Kelly、SH-SY5Y)も含めた細胞株間での発現を比較検討した。さらに、RTK モデルマウスを作成し、その血清中の候補 exosomal miRNA の発現を qRT-PCR によって解析した。

＜結果＞次世代シーケンシングの結果、RTK 細胞株(WT-CLS1、G401)において、HEK293T と比較して最も高発現であった miR-214-3p を RTK 特異的 exosomal miRNA の候補とした。qRT-PCR によって各種細胞株培養上清中の exosomal miR-214-3p の発現を比較したところ、RTK 細胞株(WT-CLS1、G401)において、HEK293T、神経芽腫細胞株(Kelly、SH-SY5Y)と比較し、培養上清中の exosomal miR-214-3p が有意に高発現であった。さらに、RTK モデルマウスを作成し、血清中の exosomal miR-214-3p の発現を qRT-PCR によってコントロールマウスと比較した。その結果、RTK モデルマウス血清中の exosomal miR-214-3p が有意に高発現であった。

＜結論＞本研究により、exosomal miR-214-3p が RTK の新規バイオマーカーとしての可能性を持つことが示唆された。