



Title	MicroRNA-26a-5p is a reliable biomarker in the adjuvant setting for pancreatic ductal adenocarcinoma
Author(s)	竹田, 佑
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/101506">https://hdl.handle.net/11094/101506</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	竹田 佑
論文題名 Title	MicroRNA-26a-5p is a reliable biomarker in the adjuvant setting for pancreatic ductal adenocarcinoma (マイクロRNA-26a-5pは浸潤性膵管癌の術後補助療法における信頼できるバイオマーカーである)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>浸潤性膵管癌（以下、膵癌）は根治的切除後、約7割が再発する予後不良の疾患である。術後6ヶ月間施行する補助化学療法により治療成績の向上が示されたが、治療成績をさらに向上させつつ不要な治療を行わないためには、体内に残存するが画像検査で検出できない癌細胞（潜在的腫瘍）の存在を推定し、同時にその癌細胞に対する化学療法感受性を予測するバイオマーカーの開発が必要である。近年、膵癌の予後予測を行うバイオマーカーとして、microRNA(miRNA)が有用であることが報告された。本研究の目的は、膵癌における潜在的腫瘍の存在を推定し、かつ術後補助化学療法感受性を予測する新規バイオマーカーとなり得る血中miRNAを同定することである。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>膵癌根治切除後の患者18例を、術後補助化学療法(AC)実施の有無(AC+/-)と再発の有無(Rec+/-)に基づいて4群に分類し、術後末梢血を用いてmiRNAマイクロアレイを行い、全2565miRNAの中からFold change&gt;1.5、p&lt;0.05を有意差ありとして、以下のように新規バイオマーカー候補となるmiRNAを選出した。潜在的腫瘍の存在を示す候補miRNAとして、AC-かつRec-症例(n=3)とRec+症例(n=11)を比較して40のmiRNAを選出し、化学療法の感受性を示す候補miRNAとして、AC実施患者で術後1年以内再発例(n=6)と術後1年以後再発例(n=5)を比較し28のmiRNAを選出し、両者に共通項となる5つを候補miRNAとした。次に、膵癌細胞株Panc-1を用いて膵癌の化学療法でよく使用するGemcitabine(GEM)に対する耐性株を4種樹立してmRNAマイクロアレイを行い、Gene Set Enrichment Analysisで解析した。GEM耐性細胞株ではIntegrin関連遺伝子が高率で発現していたことと、標的mRNA推定プログラムであるTargetScan 7.2の結果を統合し、前述の5候補miRNAの中で過去に関連性が報告されているmiR-26a-5pを選出した。</p>	
<p>膵癌細胞株MiaPaCa2、BxPC3、MiaPaCa2由来のGEM耐性株を用い、細胞培養上清中のmiR-26a-5pの発現量を測定し、GEMおよび5-Fluorouracil(5-FU)抵抗性、細胞増殖能、細胞浸潤能との関係性を、それぞれGrowth inhibition assay、Proliferation assay、Invasion assayで評価した(以下、p&lt;0.05を有意差ありとした)。miR-26a-5pは全ての細胞株で発現を認め、耐性株においては親株と比較し低発現であった(相対発現比 0.615)。細胞増殖能には差を認めなかったが、親株ではGEMおよび5-FUに対する抵抗性、細胞浸潤能は低値であった(GEM IC<sub>50</sub>:親株 13.0ng/ml vs 耐性株 N.R., 5-FU IC<sub>50</sub>:親株 2.73 vs 耐性株 5.08μg/ml、浸潤能：耐性株の36.4%)。miR-26a-5pのanti-miRNAを導入し各細胞株のmiR-26a-5pをノックダウンすると、細胞増殖能には変化を認めなかつたが、GEMおよび5-FUに対する抵抗性、細胞浸潤能は上昇した(GEM IC<sub>50</sub>:コントロール 5.34 vs ノックダウン 9.25ng/ml. 5-FU IC<sub>50</sub>:コントロール 0.790 vs ノックダウン 21.8μg/ml、浸潤能：ノックダウン株で199%に上昇)。</p>	
<p>上記とは別の患者の臨床検体を用いて検証した。膵癌根治切除後に補助化学療法を行ったが再発した33例を対象とし、術後末梢血中miR-26a-5pの高発現群と低発現群に分類し、臨床病理学的検討を行なった。まず、28例に対してIntegrin関連遺伝子の1つであるITGA5の免疫組織化学染色を行い、ITGA5陽性例におけるmiR-26a-5pの発現量を検討すると、陰性例と比較して有意に低発現であった(中央値で0.768倍)。ROC解析を行い、ITGA5陽性となる血中miR-26a-5pのCut-off値を求めるところ3.4であった(感度:0.667, 特異度:0.909, AUC:0.697)。再発患者33例をこのCut-off値で高発現群(n=27)と低発現群(n=6)に分類して検討した。両群間の臨床病理学的背景に差を認めなかつた。高発現群は低発現群と比較して術後補助化学療法の完遂率が高率であった(93% vs 0%)。薬剤感受性の評価として、再発後生存期間と全生存期間を検討すると、高発現群は低発現群と比較して延長し(再発後生存期間：中央値 14 vs 4か月、全生存期間：中央値 24 vs 13か月)、再発後生存期間に関わる単変量解析では、miR-26a-5pの高発現のみが有意な予後改善因子であった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>膵癌根治切除後の血中miR-26a-5pの発現は、潜在的腫瘍の存在を予測し、かつ化学療法感受性を予測するバイオマーカーとなる可能性が示された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 竹田 佑		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	三江口 英利
	副 査 大阪大学教授	豊島 靖彦
副 査 大阪大学教授	谷内田 真一	

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、根治切除後の肺癌に対する補助化学療法を効果的に行うために、画像検査で識別できない潜在的な癌の存在を推定し、化学療法感受性を予測する新規バイオマーカー候補となるmicroRNA(miRNA)について検討を行った。

肺癌根治切除後の患者血液試料より得られた網羅的miRNA発現解析の結果と、化学療法抵抗性肺癌細胞株の網羅的mRNA発現解析の結果から、化学療法感受性に関連するmiRNAを選出し、標的mRNA推定プログラムTargetScanの結果を統合して、miR-26a-5pに着目した。肺癌細胞株の比較実験では、miR-26a-5pが低発現の細胞株が、また親株と比較した場合にはmiR-26a-5pの発現抑制株が、高い化学療法抵抗性と細胞浸潤能を示した。前述とは別の肺癌根治切除後の再発患者33人の血液試料を用いて、血中miR-26a-5pの発現量と再発後の生存期間、即ち化学療法の奏効期間との関連性を検討すると、miR-26a-5pの発現が高い患者の再発後生存期間は有意に延長していた。

以上より、miR-26a-5pの発現は肺癌術後補助化学療法における有用なバイオマーカーとなる可能性が示された。この内容は、学位の授与に値すると考えられる。