



Title	D-loop mutations in mitochondrial DNA are a risk factor for chemotherapy resistance in esophageal cancer
Author(s)	張野, 誉史
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101507
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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	張野 誉史
論文題名 Title	D-loop mutations in mitochondrial DNA are a risk factor for chemotherapy resistance in esophageal cancer (食道癌のミトコンドリアD-loop変異は化学療法抵抗性と関連する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>切除可能進行食道癌の標準治療は術前化学療法に続く根治手術であるが、化学療法に抵抗を示す患者も存在するため未だ予後不良であり、臨床における大きな課題である。ミトコンドリアは、独自のミトコンドリアDNA (mtDNA)を持ち、ATPや活性酸素を产生し、アポトーシスを調節するなど、細胞活動を維持する上で重要な役割を果たしている。mtDNAは限定的なDNA修復機構しかないため、環境変化によって核DNAよりも変異しやすいことが知られており、mtDNAの変異率が一定の値を超えると機能異常が発生するヘテロプラスミーが特徴であるが化学療法抵抗性との関連は十分に解明されていない。そこで本研究では次世代シークエンサー(NGS)を用いて食道癌における化学療法前後のmtDNA変異を特定し、mtDNA変異の変化と臨床病理学的因子との関連性を検証することとした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
① 食道癌細胞株を用いた検討	
<p>ヒト食道癌細胞株TE11とTE8を用いてシスプラチニンの短期暴露株（10日間）・中期暴露株（21日間）・長期暴露株（半年間）を作成しmtDNAシークエンス解析を実施した。変異率95%以上のgermline mutationと、変異率95%未満のsomatic mutationを確認した。抗癌剤投与により新規導入されるsomatic mutationはD-loop領域に最も多く、短期と中期暴露で1カ所、長期暴露で4カ所に新たなsomatic mutationを認めた。</p>	
② ヒト食道癌検体を用いた検討	
<p>食道癌検体27症例において化学療法前の癌部・化学療法後の正常部と癌部を採取してDNAを抽出しmtDNAシークエンス解析を実施した。化学療法前後の癌部のmtDNA変異数を領域別に比較するとD-loop領域において、化学療法前では15カ所/13人の変異であったのに対し、化学療法後では24カ所/16人と遺伝子変異が最も増加していた。臨床的奏効度との関連を明らかにするため、実験③で化学療法後D-loop領域の変異の意義を探索することとした。</p>	
③ mtDNA 遺伝子変異と臨床病理学的因子の検討	
<p>術前化学療法後に根治術を受けた食道扁平上皮癌患者96例を対象に化学療法後切除検体からレーザーマイクロダイセクションにて癌部のDNAを抽出し、ターゲットシークエンス法でD-loopのsomatic mutationを解析した。またqPCRにてmtDNAコピー数を測定し、臨床病理学的因子やmtDNAコピー数と関連するD-loop変異を検討した。Mann-Whitney U検定の結果、HVS1 (hypervariable segment1) の変異は臨床的奏効度の不良と関連していた。 (p=0.0266)。ROC解析ではAUCは0.631であり変異数14個がカットオフ値と同定された。96症例をHVS1領域の変異数14個以上と未満の2群に分類しχ^2検定を行ったところ変異数14個以上で化学療法不応群が多かった(p=0.002)。Log-rank解析では無再発生存は有意に不良であった(p=0.0348)。HVS1領域はD-loop領域のcoding regionでありmtDNAの複製に関わっている領域であるため、mtDNAコピー数を測定したところHVS1領域の変異数14個以上の群では有意にmtDNAコピー数が低値であった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>食道扁平上皮癌において化学療法後はmtDNAのD-loop領域の変異が他領域に比べて増加しており、その中でHVS1の14個以上変異は化学療法抵抗性および予後不良因子であることが同定された。我々はmtDNAコピー数低下が化学療法抵抗性を誘導することを報告しており、その一因がHVS1領域の変異によるmtDNA複製異常である可能性が示唆された。本結果は食道扁平上皮癌においてmtDNA変異プロファイルに基づく新たな治療戦略の一助となる可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 張野 誉史		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	土岐 元一郎 署名
	副 査 大阪大学教授	谷内田 真一 署名
副 査 大阪大学特任教授	石井 博久 署名	
論文審査の結果の要旨		
<p>進行食道癌の標準治療は術前化学療法に続く手術であるが、化学療法に抵抗を示す患者の治療法改善は大きな課題である。ミトコンドリアは独自のDNA (mtDNA)を持ち、核DNAよりも変異しやすいことが特徴だが化学療法抵抗性との関連は十分に解明されていない。そこで本研究では食道癌における化学療法前後のmtDNA変異を特定し、変異の変化と臨床病理学的因子との関連性を検証することとした。シスプラチニンを経時的に暴露させた食道癌細胞株、化学療法前後のヒト食道癌検体27症例からWGSを実施し化学療法後でD-loop領域に変異が増加していることを確認した。化学療法後の食道癌検体96例でD-loop領域のシーケンスを実施し臨床病理学的因子との相関を調べたところ、HVS1の変異が多い群はmtDNAコピー数が少なく、化学療法の奏効率が低く、無再発生存期間不良と相關していた。本結果はmtDNA変異プロファイルに基づく新たな治療戦略の一助となる可能性があり、学位の授与に値すると考えられる。</p> <p>尚、本研究は2024年12月にScientific reportsに掲載された。</p>		