OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Circ72309 modulates gemcitabine metabolism and gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer: Serum Circ72309 levels as a potential predictor of treatment response
Author(s)	關口, 奈緒子
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/106973
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	關口奈緒子
論文題名 Title	**Circ72309 modulates gemcitabine metabolism and gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer: Serum Circ72309 levels as a potential predictor of treatment response (Circ72309は膵癌におけるゲムシタビン代謝とゲムシタビン感受性を調整する：治療効果の潜在的予測指標としての血清Circ72309値)**

論文内容の要旨

〔目　的(Objective)〕

膵癌は5年生存率8.5%と極めて予後不良な癌種である．ゲムシタビンは膵癌治療の中心的薬剤として使用されているが，その奏効率は約24%と治療効果は限定的である．そのため，膵癌におけるゲムシタビン感受性の予測は治療選択の最適化につながり，ゲムシタビン感受性の改善は予後改善に寄与する可能性がある．環状RNA（circular RNA, circRNA）はnon-coding RNAの一種で，pre-mRNAがバックスプライシングを受けることで形成される．安定的な環状構造を有しており，悪性腫瘍において組織特異的・分化度特異的な発現を示すと報告されている．circRNAの主な機能としてはmiRNAを吸着するスポンジ作用が報告されており，その結果として様々な遺伝子発現を制御し，腫瘍の浸潤・増殖・薬剤感受性などを制御するとされ，新たな治療標的及びバイオマーカー候補として注目されている．本研究の目的は，膵癌のゲムシタビン感受性に関与するcircRNAを同定し，その分子生物学的メカニズムを解明することにより，膵癌治療抵抗性改善及び治療法の最適化に向けた新たな治療法開発の可能性を検討することである．

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

膵癌ゲムシタビン感受性株（MIAPaCa-2）とMIAPaCa-2を用いて作成したゲムシタビン耐性株（GR3）でcircRNAシークエンスを施行し，膵癌ゲムシタビン感受性に関わるcircRNAの抽出を試みた．発現量に有意差を認めた29種のcircRNAの内MIAPaCa-2で高発現であり，多癌種で癌抑制的に働くと報告されているcirc72309を候補circRNAとして選択した(log2 fold change 3.43, p = 4.39x10^{-14})．培養上清中circ72309の発現量も同様に感受性株で発現が有意に高値であった．*in vitro*で膵癌ゲムシタビン耐性株３種（GR3/GR8/GR10）にcirc72309を過剰発現させた群（OE群)とコントロール群（NC群）との比較により，circ72309の機能を評価した．実験数は全てn=3とし，p<0.05を有意とした．MTT assayにて NC群と比しOE群で有意にゲムシタビン感受性が亢進すること，Apoptosis assayにてゲムシタビン投与下にOE群のアポトーシスが増加することが示された．以上より，circ72309過剰発現は膵癌細胞のゲムシタビン感受性を改善することが示唆された．両群のLysateのmRNAシークエンスデータをGSEA（Gene Set Enrichment Analysis）にて解析すると，OE群で電子伝達系及び，ATP産生が亢進しており，ROS（Reactive oxygen species）assayではOE群は有意にROS活性が高値であった．これまでに，ROS活性上昇に伴いゲムシタビン不活化酵素であるCDA（cytidine deaminase）が低下することで，細胞内活性ゲムシタビンの濃度が上昇すると報告されており，本実験系においてもOE群ではqRT-PCR及びWestern blottingでCDA発現が有意に低値であった．また，OE群にROS活性を低下させるN-アセチルシステインを投与することで，OE群で認めたゲムシタビン感受性亢進が打ち消された．circRNAに吸着される可能性のあるmiRNAのうち，miR-1234とmiR-1225-3pがゲムシタビン細胞内トランスポータをコードするSLC29A1と相補的な配列を有することをTargetScanを用いて確認した．OE群ではqRT-PCR及びWestern blottingでSLC29A1発現が有意に高値であった．臨床検体を用いた検討として，2016年から2023年に膵癌に対しゲムシタビンベースの術前治療（ゲムシタビン＋TS1療法）を施行した切除可能膵癌症例30例を解析した．治療前の血清中circ72309発現量をqRT-PCRで測定し，中央値で高発現群（n=15）と低発現群(n=15)に分類した．高発現群では，治療開始後の腫瘍径縮小率が高く，無増悪生存期間が有意に延長していた(p=0.025)．治療前血清中circ72309値は無増悪生存期間の独立予後因子として抽出された．(hazard ratio 5.5, 95%信頼区間 5.5[1.2-31], p=0.042)

〔総　括(Conclusion)〕

circ72309はゲムシタビン代謝の複数箇所（CDA, SLC29A1）に作用し，膵癌ゲムシタビン感受性を改善する機能を有していることが示された．さらに，治療開始前の血清中circ72309はゲムシタビン治療効果を予測するバイオマーカーになりうることが示された．

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　關口奈緒子

論文審査担当者	（職）	氏　名	
主　査	大阪大学教授	江口 英利	署　名
副　査	大阪大学教授	新谷 康	署　名
副　査	大阪大学教授	山下 治文	署　名

論文審査の結果の要旨

ゲムシタビン（Gem）は膵癌治療の主要薬剤であり，Gem感受性の改善および治療効果を予測する因子の探索は重要な課題である。circular RNA（circRNA）は癌の生物学的特性と関連し，安定した構造からliquid biomarkerとして注目されている。本研究では，Gem感受性に関連するcircRNAを同定し，その機能およびGem治療効果を予測するbiomarkerとしての可能性を検討した。Gem感受性株および耐性株のcircRNA sequence解析からcirc72309を同定し，耐性株に過剰発現させるとGem感受性が改善した。RNA sequence解析ではGemトランスポータであるhENT1および酸化的リン酸化関連pathwayの亢進が認められ，ROS活性の上昇に伴いGemを不活化するCytidine deaminase（CDA）の発現低下が認められた。さらに術前Gem治療症例において，治療前血清circ72309高発現例では無増悪生存期間が有意に延長していた。以上より，本研究は膵癌におけるGem耐性機序の一端を明らかにするとともに，Gem治療効果を予測するbiomarkerとしての可能性を示した点で意義深く，学位の授与に値すると考えられる。