OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Exosomal microRNA-4800-3p in portal vein blood promotes liver metastasis in pancreatic cancer by targeting PLAA
Author(s)	宮原, 智
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/107030
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	宮原　智
論文題名 Title	Exosomal microRNA-4800-3p in portal vein blood promotes liver metastasis in pancreatic cancer by targeting PLAA （門脈血エクソソーム中のmicroRNA-4800-3pはPLAAの発現を調節することで膵癌肝転移を促進する）

論文内容の要旨

〔目　的(Objective)〕

膵癌は根治切除後であっても高率に再発を来す，最も予後不良な癌種の一つである．特に肝転移は頻度が高く，他臓器への転移と比較して，より早期に生じ，生存率低下に強く関与する重要な予後規定因子である．近年，liquid biopsyとしてのexosomal microRNA（exo-miRNA）が腫瘍由来分子を反映するバイオマーカーとして注目されており，膵癌においても末梢血中exo-miRNAを用いた早期診断や再発予測，さらには腫瘍進行における機能的役割が報告されている．一方，膵癌からの静脈血は門脈を介して直接肝臓に流入するため，末梢血に比べ，門脈血中には肝転移に関連する腫瘍由来情報が多く含まれている可能性があると思われる．そこで本研究では，門脈血中exo-miRNAに着目し，膵癌肝転移に特徴的なmiRNAを同定するとともに，その分子生物学的機序を解明することを目的とした．

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

膵癌根治切除を施行した症例のうち，術後初再発部位が肝転移の4例，肺転移の4例，無再発の4例の計12例を対象とし，術中に採取した門脈血および末梢血からexo-miRNAを抽出しmicroarray解析を行った．その結果，門脈血中において，肝再発症例は無再発症例および肺再発症例と異なる発現プロファイルを示し，さらに同一の肝再発症例における門脈血中と末梢血中の発現プロファイルは異なっていた．volcano plot解析により，肺転移症例および無再発症例の門脈血と比較して，肝再発症例の門脈血中で高発現を呈し，かつ肝再発症例において，末梢血に比べ門脈血中で高発現を示すexo-miRNAとしてmiR-4800-3pを同定した．

まず，膵癌細胞株（MIA PaCa-2，PSN-1，Panc-1）にmiR-4800-3pを過剰発現させたところ，浸潤能および遊走能の有意な亢進を認めた（$p<0.05$）．さらに細胞は紡錘形へと形態変化を示し， EMT関連遺伝子（*SNAI1，ZEB1，VIM，CDH2*）の発現上昇と上皮マーカー（*CDH1，KRT19*）の低下を認め，EMT様変化の誘導が確認された．

mRNAシークエンス解析により，2種類のmiR-4800-3p過剰発現細胞株で共通して発現低下を示した288遺伝子を抽出し，TargetScanとの照合により直接標的候補を10遺伝子に絞り込んだ．その中からPLAA (phospholipase A2 activating protein)に着目し，PCRおよびウェスタンブロットによりmiR-4800-3p過剰発現によるPLAAのmRNAおよび蛋白発現の低下を確認するとともに，ルシフェラーゼアッセイによりmiR-4800-3pとの直接結合を確認した．さらに既報を踏まえ，miR-4800-3pによるPLAA抑制が，METTL3 (methyltransferase-like 3)のユビキチン分解抑制およびGPRC5A (G protein-coupled receptor class C group 5 member A)の発現誘導を介して肝転移に関与するかを検討した．

miR-4800-3p過剰発現により，METTL3はmRNAレベルでは変化を認めなかったものの，蛋白レベルで上昇し，GPRC5AはmRNAおよび蛋白レベルで発現上昇を認めた．ユビキチンアッセイではMETTL3のユビキチン化低下を認め，PLAA抑制を介した翻訳後制御の関与が示唆された．さらに臨床検体において，肝転移生検検体7例と肺転移切除検体7例の免疫染色の比較により，肝転移巣ではPLAAの有意な低下とMETTL3およびGPRC5Aの発現上昇を認めた．加えて，肝・肺・リンパ節転移を全て認めた病理解剖症例4例の同一症例内比較においても，原発巣や肺転移巣と比較して肝転移巣でPLAAの発現低下を示した．最後に，ヌードマウス（Balb/c nu/nu mice）の脾臓に膵癌細胞株（MIA PaCa-2）を注入する肝転移モデルを用いて検討したところ，親株に対し，miR-4800-3p過剰発現株で肝転移数の有意な増加を認め（$p<0.01$），肝重量および肝重量体重比も有意に上昇していた（$p<0.05$）．さらに肝転移巣における免疫染色では，PLAAの低下とMETTL3およびGPRC5Aの発現上昇を認めた．

〔総　括(Conclusion)〕

門脈血中のexo-miRNAの網羅的解析により，膵癌肝転移に関連するmiR-4800-3pを同定した．miR-4800-3pはPLAAを抑制することでMETTL3のユビキチン分解を抑制し，GPRC5Aの発現を上昇させることにより肝転移を促進する可能性が示された．

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 宮原　智				
		（職）	氏　　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	江口 英利	署　名
	副　査	大阪大学教授	島津 研三	署　名
	副　査	大阪大学教授	小玉 美智子	署　名

論文審査の結果の要旨

膵癌において門脈血中のExosomal microRNA（exo-miRNA）が新たなbiomarkerとして着目されている。本研究では、膵癌肝転移に特徴的な門脈血exo-miRNAを同定し、その機能的意義および分子機序を解明することを目的とした。膵癌切除症例の門脈血・末梢血からexo-miRNAを抽出し、microarray解析を行なった結果、肝転移に関連するexo-miRNA profileは門脈血と末梢血で異なっていた。肝再発症例の門脈血で特に発現上昇を認め、末梢血では変化を認めないmiRNAとしてmiR-4800-3pを同定した。miR-4800-3pの過剰発現により、膵癌細胞株の遊走能・浸潤能・上皮間葉転換は亢進した。mRNA sequence解析により、PLAA（phospholipase A2 activating protein）が標的遺伝子として抽出された。In vivo肝転移モデルにおいて、miR-4800-3p過剰発現細胞株の肝転移能の亢進を認めた。臨床肝転移検体において、PLAAとその下流の分子に特徴的な発現変化が認められた。本研究は、門脈血exo-miRNAが膵癌肝転移機序の解明と新規治療戦略開発に寄与する可能性を示した重要な成果であり、学位授与に値するものと認める。