



Title	Involvement of microRNA-181b in the gemcitabine resistance of pancreatic cancer cells
Author(s)	瀧内, 大輔
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34100">https://hdl.handle.net/11094/34100</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	瀧内 大輔
論文題名 Title	Involvement of microRNA-181b in the gemcitabine resistance of pancreatic cancer cells (膵癌細胞のGemcitabine耐性におけるmicroRNA-181bの関与)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>膵癌は癌死の主要原因のひとつであり、切除可能であってもその治療成績は十分とは言えない。Gemcitabineを用いた化学療法は膵癌集学的治療における中核をなすが、同治療への耐性は重要な問題となる。教室ではこれまでGemcitabineの代謝に関わるRRM1 (ribonucleotide reductase M1) とGemcitabine耐性の関係について報告してきたが、Gemcitabine耐性のメカニズムは未だ部分的にしか解明されていないのが現状である。近年、microRNA (以下miRNA) が抗癌剤耐性を制御するうえで重要な役割を果たしていることが示され注目を集めている。miRNAは20塩基対程度の一本鎖RNAであり、標的mRNAのタンパクへの翻訳を阻害する。miR-181bは抗癌剤耐性に関連するmiRNAの中で、いくつかの癌腫で予後や抗癌剤耐性に関連していることが報告されており、例えは膠芽腫では放射線化学療法における治療不応群で高発現しているといった報告や大腸癌に対する抗癌剤治療にて高発現群で予後不良といった報告がある一方で、胃癌や肺癌の抗癌剤耐性株では発現が低下するという逆の報告もある。膵癌においてはmiR-181bの抗癌剤耐性についての報告はない。そこで本研究では、膵癌細胞株を用いてmiR-181bと抗癌剤耐性との関連性を検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>膵癌細胞株はMiaPaCa2、BxPC3、Panc1およびPSN1を用いた。これらの細胞株でのmiR-181bの発現を測定したところ、MiaPaCa2が他の細胞株に比較して最も発現が低かった。そこでMiaPaCa2にPre-miR-181bを、BxPC3、Panc1およびPSN1にAnti-miR-181bを導入し、Gemcitabine感受性の変化をMTTアッセイ法で測定したところ、MiaPaCa2では導入株でviabilityは上昇していた (コントロール群 : IC<sub>50</sub>=6.57 ng/ml、miR-181b導入群 : 27.4 ng/ml)。一方、BxPC3、Panc1 およびPSN1にAnti-miR-181bを導入した株ではいずれもviabilityの低下を認めた。次にmiR-181bによるviabilityの変化はアポトーシスの誘導によるものかどうかを検証するため、PSN1を用いてAnnexin Vアッセイ法を施行したところ、25ng/mlのgemcitabine存在下にアポトーシスの割合の増加が確認された (コントロール群 : 4.8%、miR-181b抑制群 : 13.0%)。</p> <p>miR-181bによって抑制を受ける遺伝子の1つとして、腫瘍抑制遺伝子であり家族性円柱腫症の原因遺伝子でもあるCYLD (cylindromatosis) が報告されている。そこでMiaPaCa2にPre-miR-181bを、BxPC3、Panc1およびPSN1にAnti-miR-181bを導入してCYLD蛋白の発現をウエスタンプロット法で確認したところ、MiaPaCa2の導入株ではCYLD蛋白量が低下し、Panc1およびPSN1の導入株では蛋白量が上昇していた。一方、BxPC3では発現の変化が認められなかった。さらにPanc1およびPSN1にsiCYLDを導入してCYLD蛋白の発現量を低下させ、MTTアッセイ法により抗癌剤耐性の変化を評価したところ、siCYLD導入株でviabilityは上昇していた。CYLDは脱ユビキチン化酵素であり、NF-κBのシグナル伝達を抑制すると報告されているため、Panc1およびPSN1を用いてルシフェラーゼアッセイ法にてNF-κBの活性を測定したところ、siCYLDを導入した細胞株でNF-κBの活性の上昇が確認された。</p>	
〔総 括(Conclusion)〕	
<p>膵癌細胞株においてGemcitabine耐性とmiR-181bの関連を示した。さらにそのメカニズムとしてmiR-181bの発現が上昇することでCYLDの発現が抑制され、NF-κBのシグナル伝達が活性化し、抗癌剤耐性が誘導されるという機序が示唆された。以上より、miR-181bの制御による抗癌剤耐性の改善とその臨床応用の可能性が示された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 滝内 大輔		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	森 正 樹
	副 査 大阪大学教授	佐藤 亮郎
副 査 大阪大学教授	月田 早智子	
論文審査の結果の要旨		
<p>肺癌治療においてGemcitabineを用いた化学療法は集学的治療における中核をなすが、Gemcitabine耐性のメカニズムは未だ部分的にしか解明されていない。</p> <p>miR-181bはいくつかの癌腫で予後や抗癌剤耐性に関連していることが報告されているが、肺癌においてはmiR-181bの抗癌剤耐性についての報告はない。</p> <p>そこで本研究では、肺癌細胞株を用いてmiR-181bと抗癌剤耐性との関連性を検討したところ肺癌細胞株においてGemcitabine耐性とmiR-181bの関連が示された。さらにそのメカニズムとしてmiR-181bの発現が上昇することでCYLDの発現が抑制され、NF-<math>\kappa</math>Bのシグナル伝達が活性化し、抗癌剤耐性が誘導されるという機序も示唆された。</p> <p>miR-181bの制御による抗癌剤耐性の改善とその臨床応用の可能性が示された本論文は学位の授与に値すると考えられる。</p>		