

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | miR-320c regulates gemcitabine-resistance in pancreatic cancer via SMARCC1                                                                                                                                                                                                              |
| Author(s)    | 岩上, 佳史                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Citation     | 大阪大学, 2014, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/34261">https://hdl.handle.net/11094/34261</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名<br>Name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 岩上 佳史                                                                                                                |
| 論文題名<br>Title                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | miR-320c regulates gemcitabine-resistance in pancreatic cancer via SMARCC1<br>(miR-320cはSMARCC1を介して膵癌のゲムシタビン耐性を制御する) |
| 論文内容の要旨                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                      |
| <p>〔目的〕</p> <p>膵癌は我が国の癌死の第5位であり、切除可能であってもその治療成績は十分なものとは言えない。ゲムシタビンを用いた化学療法は、膵癌における集学的治療の中核であるが、同治療への耐性は重要な問題として残っている。教室では、これまでゲムシタビンの代謝に関わるRRM1 (ribonucleotide reductase M1) とゲムシタビン耐性の関係に関して報告してきたが、ゲムシタビン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) が薬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。本論文では、膵癌のゲムシタビン耐性を制御するmiRNAをマイクロアレイを用いて同定し、その機能解析を行うことを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績〕</p> <p>2系統の膵癌細胞株 (MiaPaCa2, PSN1) において、ゲムシタビン耐性クローン (以下MiaPaCa2-RGs; MiaPaCa2-RG1, -RG2, -RG3, -RG4, およびPSN1-RGs; PSN1-RG1, -RG2, -RG3) を樹立し、それぞれの親株 (以下MiaPaCa2-P, PSN1-P) とともにmiRNAマイクロアレイ解析を行った。親株と比較し、ゲムシタビン耐性クローンにおいてfold changeが1.5倍以上、発現量が十分に確保されていることを条件に、ゲムシタビン耐性に関わる候補miRNAを抽出したところ、MiaPaCa2-RGsとMiaPaCa2-Pの比較においては20個、PSN1-RGsとPSN1-Pの比較においては74個が抽出され、2系統で共通するものは8個であった。そのうち有意差が保たれ、fold changeが最も大きかったのはmiR-320c (平均1.97倍) であった。定量的PCR法により、MiaPaCa2-RGsにおけるmiR-320c発現がMiaPaCa2-Pと比較してそれぞれ有意に高いことが確認された。</p> <p>続いてmiR-320cの強制発現/発現抑制系をLipofection法にて作成した。薬剤感受性試験 (MTTアッセイ) では、miR-320cの強制発現によりMiaPaCa2-Pのゲムシタビン耐性が有意に増強し、逆にmiR-320cの発現抑制によりMiaPaCa2-RG1のゲムシタビン耐性が有意に減弱することが示された。miR-320cの標的遺伝子に関しては、標的予測アルゴリズムであるTargetScanにより抽出された539個の予測標的遺伝子のうち、癌抑制作用を有すると報告のあるSWI/SNF複合体の構成分子のひとつであるSMARCC1に着目して検討した。定量的PCR法およびウェスタンブロット法による発現評価では、MiaPaCa2-RG1におけるSMARCC1の発現がMiaPaCa2-Pと比較して有意に低いことが確認され、miR-320c強制発現によりMiaPaCa2-PにおけるSMARCC1の発現が低下し、miR-320cの発現抑制によりMiaPaCa2-RG1におけるSMARCC1の発現が上昇することを示した。さらにLuciferase reporter activityを評価することによりmiR-320cがSMARCC1遺伝子の3'UTR領域に直接結合することを示した。またSMARCC1の発現抑制により、MiaPaCa2-Pにおけるゲムシタビン耐性が有意に増強することを示した。</p> <p>最後に66例の臨床切除標本に対して、免疫組織化学染色を用いてSMARCC1の発現を検討した。正常膵管では均一な核の染色が得られるのに対して、癌部では、①まだらに核が染色される、②核は染色されず細胞質のみが染色される、③核も細胞質も染色されない、の3つのパターンが認められた。癌部で「核の染色が得られたもの」のみをSMARCC1陽性と定義し、その発現と予後の解析を行った。SMARCC1の発現は全生存期間と無再発生存期間において有意差を認めなかった。しかしゲムシタビン投与下における再発後生存期間は、SMARCC1陽性例のみ生存期間の延長が期待できるが (<math>P = 0.0463</math>)、SMARCC1陰性例では生存期間の延長が期待できない、という結果であった。</p> <p>〔総括〕</p> <p>膵癌のゲムシタビン耐性に関わるmiRNAのひとつとしてmiR-320cを同定し、miR-320cがSMARCC1を介してゲムシタビン耐性を制御していることを明らかにした。膵癌においてゲムシタビンを用いた化学療法を行う上で、miR-320c/SMARCC1は治療効果を予測する有用な因子となり得るばかりでなく、さらなる治療標的となり得る可能性が示唆された。</p> |                                                                                                                      |

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 岩上佳史

|         | (職) | 氏名               |
|---------|-----|------------------|
| 論文審査担当者 | 主査  | 大阪大学教授<br>土岐 祐一郎 |
|         | 副査  | 大阪大学教授<br>奥村 明之進 |
|         | 副査  | 大阪大学教授<br>石井 香始  |

## 論文審査の結果の要旨

膵癌に対する化学療法の問題点である、ゲムシタビン耐性の制御因子検索を目的とした研究である。近年、薬剤耐性を制御するうえでも重要な役割が注目を集めているmicroRNAに着目しており、2系統の膵癌細胞株MiaPaCa2およびPSN1を用いてゲムシタビン耐性クローンを樹立した上で、それぞれのmicroRNAマイクロアレイを解析し、miR-320cを抽出した。miR-320cが、クロマチンのリモデリング作用を有するSWI/SNF複合体の構成分子のひとつであるSMARCC1を標的とすることで、ゲムシタビン耐性を制御していることを明らかにし、さらに膵癌臨床切除標本を用いて、癌部におけるSMARCC1の発現がゲムシタビン投与下における再発後予後を予測する有用な因子となり得ることを示した本論文は学位授与に値するものとする。