The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	miR-146a suppresses the sensitivity to interferon-α in hepatocellular carcinoma cells
Author(s)	友國, 晃
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58983
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【90】

氏　　名	友　國　　晃（とも　くに　あきら）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５１３６　号
学位授与年月日	平成24年３月22日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	miR-146a suppresses the sensitivity to interferon- α in hepatocellular carcinoma cells （miR-146aは肝癌細胞のインターフェロン－α感受性を低下させる）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　土岐祐一郎 （副査） 教　授　竹原　徹郎　　教　授　三善　英知

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

教室では，これまで肝癌患者に対するインターフェロン-α（IFN-α）をベースとした化学療法の有効性を報告してきた．しかし非奏効例の予後は依然極めて悪く，同治療への抵抗性は大きな問題であり，そのメカニズムの解明は重要な課題といえる．一方，microRNA（miRNA）は遺伝子発現の転写後抑制にかかわる分子として，正常細胞のみならず癌細胞においても重要な役割を果たすことが示され，近年注目を集めている．本論文では，肝癌におけるIFN-α感受性を制御するmiRNAを同定し，そのメカニズムを解析することを目的として研究を行った．

〔　方法ならびに成績　〕

肝癌細胞株PLC/PRF/5の親株（以下PLC-Pとする），およびそのIFN-α耐性クローン（以下PLC-Rs;PLC-R1,-R2,-R3とする）を用いたmiRNAマイクロアレイ解析を行った．PLC-Rsの各クローンにおけるmiRNAの発現をPLC-Pとの間で比較し，3つの耐性クローンで共通してfold change＞1.2であったものは115個抽出され，そのうち最もfold changeが大きかったのはmiR-146a（fold change 3.04）であった．定量的PCR法によりPLC-RsにおけるmiR-146a発現がPLC-Pと比較して有意に高いことが確認された．

続いてmiR-146aの発現増強/発現抑制系をLipofection法にて作成した．MTTアッセイにて，miR-146aの発現増強によりPLC-PのIFN-α感受性が有意に低下し，逆にmiR-146aの発現抑制によりPLC-R1のIFN-α感受性が有意に向上することが示された．Annexin Vアッセイにて，miR-146aの発現調節により，IFN-α曝露に伴うアポトーシス細胞数の有意な変化を来たすことが示され，miR-146aがアポトーシスの抑制を介してIFN-α感受性を低下させることが明らかとなった．

miR-146aの標的遺伝子に関しては，これまでに報告されているもののうち癌抑制遺伝子として知られるSMAD4に注目して検討した．ウェスタンブロット法による発現評価にて，miR-146a発現増強によりPLC-PにおけるSMAD4の発現が低下し，miR-146a発現抑制によりPLC-R1におけるSMAD4の発現が増強することを示し，miR-146aの下流でSMAD4タンパクの発現レベルが変化することがわかった．

最後にSMAD4とIFN-α感受性の関係を検討した．SMAD4のknock downにより，PLC-PにおけるIFN-α感受性は有意に低下した．さらに，miR-146a発現抑制に伴うPLC-R3のIFN-α感受性の向上が，SMAD4のknock downを併施することで損なわれることが示された．これらのことから，miR-146aの下流で認められるSMAD4の発現レベルの変化はIFN-α感受性にも影響しており，機能的にも重要な役割を果たしていることが示唆された．

〔　総　　括　〕

肝癌細胞におけるIFN-α感受性を制御するmiRNAのひとつとしてmiR-146aを同定し，miR-146aはSMAD4を標的としてIFN-αの抗腫瘍効果を減弱させていることを明らかにした．今後，肝癌患者に対するIFN-αをベースとした化学療法に際して，治療効果予測のツール，あるいは治療標的として有用となりうる可能性が示唆された．

論文審査の結果の要旨

肝細胞癌に対するインターフェロン-α(IFN-α)をベースとした化学療法における問題点である治療感受性の低下をもたらす分子の検索を目的とした研究である．近年細胞機能における重要な役割が注目されているmicroRNAに着目しており，肝癌細胞株PLC/PRF/5，およびそのIFN-α耐性株を比較したmiRNAマイクロアレイからmiR-146aを抽出した．さらに，miR-146aの発現増強/抑制系を作成し，miR-146aがSMAD4の発現抑制を介してIFN-α感受性を低下させることを示した本論文は学位授与に値するものと考える．