

Title	Let-7 Expression Is a Significant Determinant of Response to Chemotherapy through the Regulation of IL-6/STAT3 Pathway in Esophageal Squamous Cell Carcinoma
Author(s)	杉村, 啓二郎
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59736
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【114】

氏 名	杉 村 啓 二 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 9 4 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 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	Let-7 Expression Is a Significant Determinant of Response to Chemotherapy through the Regulation of IL-6/STAT3 Pathway in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. (食道扁平上皮癌において、let-7 発現は IL-6/STAT3 経路の調節を介して、化学療法感受性の重要な決定因子となる。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 土岐 祐一郎 (副査) 教 授 森井 英一 教 授 猪原 秀典

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

食道癌は悪性度の高い癌であり、近年の手術手技や周術期管理の向上にも関わらず、手術単独の成績は必ずしも良好ではない。治療成績向上のために手術に加えて化学療法や放射線療法を組み合わせた集学的治療が広く行われているが、中でも術前化学療法+手術は有望な治療の一つである。しかし、食道癌に対する化学療法の奏功率は25-48%程度で、非奏功例ではsurvival benefitが得られず、個別化治療のために感受性予測の確立が求められている。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。本研究では、食道癌の術前化学療法の感受性を制御するmiRNAを同定し、そのメカニズムを解析することを目的とした。

〔 方 法 〕

食道癌細胞株TE8およびTE10にシスプラチンを間欠的に暴露させて、シスプラチンに耐性を示す耐性株を作成した。親株と樹立した耐性株からRNAを抽出し網羅的miRNA発現解析を行った。両細胞株間に共通して発現差を認めるmiRNAを薬剤耐性に関連する候補miRNAとした。シスプラチンを含む術前化学療法を施行した進行食道癌74例の治療前生検サンプルを用いて、これらの候補miRNA発現と術前化学療法の効果と予後についての関連を検討した。また、miRNA発現が化学療法感受性に影響を与えるメカニズムを解明するためにin vitro アッセイを行った。

〔 成 績 〕

親株と耐性株の網羅的miRNA発現解析結果より、TE8、TE10で親株/耐性株間でのmiRNAの発現を比較し、共通してfold change>1.7であった15個のmiRNAが化学療法感受性に関与するmiRNAとして抽出された。そのうち耐性株で発現が上昇したものは、miR-96、-101、-135a、-141、-146a、-489、-545の7個で、発現が低下したのはmiR-10a、-99a、-136、-145、-202、-204、let-7b、-7cの8個であった。

続いて、当科で術前化学療法(5-FU/シスプラチン/アドリアマイシン)を施行後に食道切除を施行した食道癌患者を対象として、治療前生検サンプルでの候補miRNA発現を調べて、その発現と術前化学療法の効果についての関連を検討した。全74例のうち、奏功例33例、非奏功例41例であった。15個のmiRNAのうち、let-7c高発現37例中23例(62.2%)が奏功例であるのに対し、let-7c低発現37例では10例(27.0%)が奏功例であり、let-7c低発現例で有意に化学療法の効果が低かった(p=0.005)。組織学的効果で検討すると、let-7cの低発現症例では組織学的効果が有意に低かった(p=0.032)。予後では、let-7c低発現症例はlet-7c高発現症例に比べて有意に予後不良であった(p=0.032)。

次に、食道癌細胞株TE13にpre-let-7cを導入し、let-7c発現増強系を作成した。MITアッセイにて、let-7c発現増強によりTE13のシスプラチン感受性が有意に増強した。AnnexinVアッセイでは、let-7c発現増強により、シスプラチン暴露後のアポトーシス細胞が有意に増加した。Let-7cの標的遺伝子に関しては、薬剤耐性に関与するとの報告があるIL-6に注目して検討した。シスプラチン暴露後に培養上清中のIL-6は上昇し、癌細胞におけるIL-6のmRNAも上昇した。さらにシスプラチン暴露によりその下流シグナルであるSTAT3のリン酸化が増加した。IL-6をsiRNAにて発現抑制すると、MTTおよびAnnexinVアッセイにて、TE13のシスプラチン感受性が有意に改善することから、シスプラチン暴露により産生されるIL-6自身が、シスプラチン耐性に関与することが示唆された。さらに、let-7cを発現増強下では、シスプラチン暴露によるIL-6産生は有意に抑制され、その下流シグナルのSTAT3のリン酸化も抑制された。

〔 総 括 〕

食道癌組織における化学療法感受性を制御するmiRNAとしてlet-7cを同定した。let-7c発現が化学療法感受性を規定するメカニズムとして、let-7が化学療法によるIL-6/STAT3のprosurvival pathwayの活性化を抑制することを見出した。Let-7の発現は化学療法の感受性予測に有用であり、またlet-7/IL-6/STAT3 pathwayは食道癌の治療標的となる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

食道癌に対するシスプラチンをベースとした術前化学療法の問題点である、治療感受性の決定因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、食道癌細胞株TE8およびTE10を用いて、シスプラチン耐性株を樹立し、microRNAマイクロアレイからlet-7cを抽出した。さらに、Let-7cは、IL-6のmRNAを標的とすることで、シスプラチンの感受性に関わ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。