



Title	SIRT3-Mediated SOD2 and PGC-1 α Contribute to Chemoresistance in Colorectal Cancer Cells
Author(s)	朴, 正勝
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82082
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	朴 正勝
論文題名 Title	SIRT3-Mediated SOD2 and PGC-1 α Contribute to Chemoresistance in Colorectal Cancer Cells (大腸癌細胞においてSIRT3はSOD2およびPGC-1 α を制御し、抗癌剤耐性に寄与する)
論文内容の要旨	
〔目 的 (Purpose)〕	
抗癌剤に対する耐性は癌治療の最大の障壁であり、そのメカニズムの解明は極めて重要な課題である。われわれは、抗癌剤に対する耐性獲得に、活性酸素種およびミトコンドリア機能が強く関係していることを報告した。同研究では、抗癌剤耐性を制御する遺伝子の一つとして<i>Sirtuin 3</i> (以下、SIRT3) が示されたが、抗癌剤耐性とSIRT3の関連を明示した報告はほとんどない。本研究では、大腸癌におけるSIRT3を介した抗癌剤耐性のメカニズムを明らかにすることを目的とした。	
〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕	
(方法) ヒト大腸癌細胞株 (Caco2、HCT116、HT29、SW480) を用いてSIRT3発現と抗癌剤耐性との関係を<i>in vitro</i> で評価した。抗癌剤として、大腸癌治療のキードラッグである5-フルオロウラシル、オキサリプラチン、SN-38 (イリノテカンの活性代謝物) を用いた。ROS誘導剤として過酸化水素水 (以下、H₂O₂)、ROS拮抗剤としてN-アセチルシステイン (以下、NAC) を用いた。SIRT3とミトコンドリア内活性酸素種 (以下、mtROS) およびミトコンドリア機能との関係を評価するため、shRNAを用いたSIRT3の発現抑制 (以下、sh-SIRT3)、siRNAを用いたsuperoxide dismutase-2 (以下、SOD2) の発現抑制モデル (以下、si-SOD2) とperoxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 (以下、PGC-1α) の発現抑制 (以下、si-PGC-1α) を行った。さらに、大腸癌切除検体を用いてSIRT3の免疫組織化学染色を行い、SIRT3発現量と臨床病理学的因子や予後との相関を検討した。 (結果) 抗癌剤処理により、いずれの細胞株および薬剤においてもmtROSレベルは上昇し、アポトーシスが誘導されることが示されたが、その誘導効果は、SIRT3 mRNA発現の高い細胞株 (HCT116、HT29) では低く、SIRT3 mRNA発現の低い細胞株 (SW480) では高くなっていることが示された。続いて、H₂O₂曝露によりmtROSの生成亢進とアポトーシスの誘導が認められ、NACを追加することで、mtROS生成およびアポトーシス誘導が抑制されることを確認した。各細胞株間でH₂O₂曝露によるmtROS生成およびアポトーシス誘導レベルを比較したところ、抗癌剤曝露時と同様に、SIRT3 mRNA発現の高い細胞ではmtROS生成およびアポトーシス誘導レベルが低かった。sh-SIRT3条件下で抗癌剤処理を行ったところ、コントロールと比較し、mtROSおよびアポトーシス誘導の亢進を認めた。sh-SIRT3条件下ではmtROS還元酵素の一つであるSOD2の発現および活性が低下しており、si-SOD2条件でH₂O₂および抗癌剤曝露によるmtROS誘導レベルを評価したところ、コントロールと比較し、mtROS誘導の亢進を認めた。H₂O₂処理によりSIRT3発現は上昇し、さらにミトコンドリア生成制御因子の一つであるPGC-1αの発現やミトコンドリア活性の亢進を認めた。sh-SIRT3条件下ではPGC-1αの発現は低下し、H₂O₂処理によるミトコンドリア活性の上昇が抑制されており、ミトコンドリアDNAコピー数やミトコンドリア代謝機能の低下も認めた。si-PGC-1α条件下では、H₂O₂処理によるミトコンドリア活性の上昇を抑制し、アポトーシス誘導の亢進を認めた。最後に、大腸癌切除検体を用いてSIRT3発現と予後との関係を検討した。炎症性腸疾患関連大腸癌や術前化学療法実施症例を除いた全142例を対象とし、SIRT3の発現量を基にSIRT3高発現群 (n=61) とSIRT3低発現群 (n=81) の2群に分け、臨床病理学的背景を比較したところ、リンパ管侵襲はSIRT3高発現群で有意に高かったが (p<0.01)、癌進行度 (TNMステージ) に有意な差を認めなかった。予後に関して、無再発生存期間では両群間で有意差を認めなかったが (p=0.07)、癌特異的生存期間ではSIRT3高発現群で有意に予後不良であった (p=0.01)。癌特異的生存期間に関して単変量および多変量解析を用いて相関因子を検討したところ、SIRT3発現は独立した相関因子であることが示された (HR:3.60、95%CI:1.38-10.61、p<0.01)。	
〔総 括 (Conclusion)〕	
大腸癌細胞において、SIRT3はSOD2とPGC-1αを正に制御し、mtROS抑制およびミトコンドリア代謝に関与することで、抗癌剤耐性に寄与する可能性を示した。さらに、SIRT3は大腸癌切除後の独立した予後予測因子であることも明らかにした。以上の結果より、SIRT3が大腸癌治療の新たな治療標的であると共に、抗癌剤の感受性予測マーカーとして有用である可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 朴 正勝		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 江口 英利
	副 査	大阪大学教授 佐藤 太郎 齊藤 謙九郎教授
	副 査	大阪大学教授 藤 王 子

論文審査の結果の要旨

本論文では、大腸癌細胞株を用いた実験系により、Sirtuin3（以下、SIRT3）が大腸癌細胞の抗癌剤耐性に寄与していることを示し、そのメカニズムを明らかにした。大腸癌細胞株毎のSIRT3 mRNA発現の違いが、抗癌剤により誘導されるミトコンドリア内活性酸素種（以下、mtROS）やアポトーシスに影響を与えることを示した。そのメカニズムとして、SIRT3がSuperoxide dismutase 2やPeroxisome proliferatoractivated receptor γ coactivator-1 α を正に制御することで、それぞれmtROS誘導の抑制やミトコンドリア活性の亢進に関わり、アポトーシスを抑制していることを示した。さらに、大腸癌の切除検体において、SIRT3高発現は癌特異的生存率において予後不良であり、多変量解析でSIRT3発現が独立した予後相関因子であることを示した。以上の研究結果は、新たな大腸癌治療の先鞭となる可能性があり、学位に値するものと認める。