



Title	Rubicon can predict prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma after neoadjuvant chemoradiotherapy
Author(s)	丸川, 大輝
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/92880">https://hdl.handle.net/11094/92880</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。

*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	丸川 大輝
論文題名 Title	Rubicon can predict prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma after neoadjuvant chemoradiotherapy (Rubiconは術前化学放射線療法後の膵癌において予後予測因子となる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>難治癌である膵癌では、手術に化学療法・放射線療法を組み合わせた集学的治療が重要とされており、その中でも術前化学放射線療法の有用性が示されつつあるが、十分な予後の改善には至っていない。近年、新たな治療法の開発へ向けてAutophagyに着目した研究が行われている。癌細胞が化学療法や放射線療法を受けた際に働くAutophagyの作用は、一般的に癌細胞の生存に寄与すると考えられている一方で、癌抑制に働くとの報告も散見され、一定の見解はない。そこで本研究では、内因性のAutophagy制御因子であるRubiconに着目し、術前治療後の膵癌におけるRubiconの発現の解析およびそのメカニズムの解明、新規治療法の開発を目指すことを目的とした。</p>	
〔方法(Methods)〕	
<p>(1) 2007年3月から2015年5月まで当科で術前化学放射線療法後に根治切除をおこなった膵管癌81例を対象とし、抗Rubicon抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、発現強度をpositive controlである脾臓と比較して高発現群と低発現群の2群に分類し、臨床病理学的因子を用いて予後解析を行い、<math>p &lt; 0.05</math>を有意差ありとした。</p> <p>(2) 膵管癌細胞株MiaPaCa-2(親株)、およびこの細胞株を用いて樹立したGemcitabine(GEM)耐性株であるMIA-GRにおいて、RUBICONの発現を定量的PCRおよびWestern Blottingで検討し、Autophagy活性をAutophagic flux assayで評価した。さらにRubiconの制御機構を検討するため、2種類のsiRNA(siRUBICON-1、siRUBICON-2)を作成、導入し、GEM感受性、細胞増殖能、細胞浸潤能への影響について、それぞれGrowth inhibition assay、Proliferation assay及びInvasion assayで評価した。実験数はすべて<math>n=3</math>とし、<math>p &lt; 0.05</math>を有意差ありとした。</p>	
〔成績(Results)〕	
<p>(1) 術前化学放射線療法後の膵癌切除標本を用いたRubiconの発現に関する検討では、高発現群(33例)と低発現群(48例)の2群間において臨床病理学的背景に差は認めなかった。高発現群における全生存期間、無再発生存期間は低発現群と比較し、ともに短縮していた(全生存期間：中央値 2.02 vs 3.21年、無再発生存期間：0.90 vs 1.90年)。多変量解析では、Rubicon高発現(全生存：ハザード比(HR), 1.85, 無再発生存：HR, 1.98)と術後補助療法の完遂(全生存：HR, 0.44, 無再発生存：HR, 0.46)が予後不良因子であった。</p> <p>(2) MIA-GRにおけるRUBICONの発現は、mRNAで1.67倍まで、蛋白で1.53倍まで増加していたため、MIA-GRの作成過程と同様に、親株のGEM曝露下での継代培養におけるRUBICON発現の変化を評価したところ、継時的な増加を認め、8週間後にはmRNAで2.60倍、蛋白で1.69倍であった。MIA-GRにおけるAutophagy活性は親株よりも低下していた。MIA-GRにおけるsiRUBICON導入によるAutophagy活性への影響を検討すると、siRUBICON-1、siRUBICON-2いずれの導入においてもAutophagy活性は上昇した。続いてGEM感受性、細胞増殖能、細胞浸潤能への影響について検討したところ、siRUBICON導入によるGEM感受性への影響は認められなかった一方で、Proliferation assayでは、細胞播種後48時間後において増殖細胞数がsiRUBICON-1導入により82.3%、siRUBICON-2導入により37.6%に減少し、Invasion assayでは、浸潤細胞数がsiRUBICON-1導入により61.2%、siRUBICON-2導入により41.8%に減少した。以上のことから、膵癌細胞株において、GEMの添加によるRubiconの発現上昇は、Autophagyを抑制することと、GEM感受性に関与するというよりむしろ、細胞増殖能および細胞浸潤能に関与することが示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究において、術前化学放射線療法後の膵管癌症例ではRubicon高発現が予後不良因子であること、GEM長期曝露後の膵管癌細胞ではRubiconの発現が上昇し、そのRubiconの発現を抑制することで細胞増殖能、細胞浸潤能が低下することを示した。以上から、術前治療後膵癌においてRubiconを標的とした治療法が選択肢の一つとな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) 丸川 大輝				
論文審査担当者	(職)	氏	名	
	主査	大阪大学教授	江口 英利	署名
	副査	大阪大学教授	新谷 隼	署名
	副査	大阪大学特任教授	石井 香始	署名
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>難治癌である膵癌の治療戦略として、術前化学放射線療法の有用性が示されつつあるが、十分な予後の改善には至っていない。近年、新たな治療法の開発に向けてAutophagyに着目した研究が行われているが、化学療法や放射線療法を受けた癌細胞におけるAutophagyの作用は、癌細胞の生存に寄与すると考えられている一方で、癌抑制に働くとの報告もあり、一定の見解はない。そこで、本研究では、内因性のAutophagy制御因子であるRubiconに着目し、術前化学放射線療法後の膵癌におけるRubiconの発現の意義を検討することを目的とした。</p> <p>本研究は、術前化学放射線療法後の膵癌症例ではRubicon高発現が予後不良因子であること、GEM長期暴露後の膵癌細胞ではRubiconの発現が上昇し、Autophagy Fluxが低下していること、そしてGEM長期暴露後の膵癌細胞のRubiconを抑制することで細胞増殖能、細胞浸潤能が低下することを示した。</p> <p>本研究は、膵癌における癌治療とAutophagyの関係性を解明する一助となりうるとともに、術前化学放射線療法後の膵癌においてRubiconを標的とした治療法が新たな治療選択肢となりうることを示す研究成果をあげており、学位の授与に値すると考えられる。</p> <p>尚、本研究は2023年4月にInternational Journal of Clinical Oncology誌に掲載された。</p>				