



Title	Association between circ_0004365 and cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma
Author(s)	山田, 萌
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98652
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	山田 萌
論文題名 Title	Association between circ_0004365 and cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma (circ_0004365は食道扁平上皮癌におけるシスプラチニン抵抗性に関連する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>食道扁平上皮癌（ESCC）は固形癌の中で最も悪性度が高い癌の一つである。シスプラチニンを中心とした化学療法、手術、放射線療法を用いた集学的治療が進歩しつつある一方で、治療抵抗性を示す症例も少なくない。circular RNA (circRNA) はnon-coding RNAのひとつで、バックスプライシングによって生成される数百～数千の塩基からなる環状のRNAである。circRNAは環状構造を持つことから変性や酵素的分解による影響が少ない。また、circRNAはmicroRNA (miRNA) と結合する塩基配列を有し、miRNAを吸着、阻害することによりタンパク質発現経路を内因的に調節する機能を有している。これらの特性から、circRNAは新たなバイオマーカーや核酸治療薬の鋳型としての可能性が期待され、疾患特異性のあるcircRNAについての報告も既に散見する。種々の固形癌においても癌の浸潤度とcircRNAとの関連や、シスプラチニン耐性におけるcircRNAの関与についての報告がある。本研究は、ESCCの化学療法において頻用されるシスプラチニンの治療抵抗性メカニズムに関連するcircRNAを探索することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>ESCCの細胞株TE11とそのシスプラチニン耐性株（TE11R）を用いてRNAシークエンスを行った。circRNAの発現プロファイルは解析ツールのCIRCExplorer2を用いてcircRNAに特異的な環状構造を成すjunction部分の塩基配列を検出する方法にて構築した。計10451のcircRNAの発現が確認され、そのうち4791のcircRNAがTE11とTE11Rで共通して発現がみられた。TE11RにおいてTE11よりも有意に高発現(fold-change>3.0かつP-value<0.05)であることが示唆された上位10のcircRNAを候補として、quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR)にて細胞株、食道正常組織、ESCC組織における発現定量を行った。qPCRはcircRNAに特異的な塩基配列を含むプライマーを各1組設計して行った。候補のうちcirc_0004365は安定した発現が確認され、TE11Rにおいて高発現を示し、ESCC細胞株TE8のシスプラチニン耐性株においても親株よりも有意に高発現を示すことが確認されたため、本研究におけるtargetとした。circ_0004365はSEMA3C遺伝子領域のバックスプライシングによって生成されるcircRNAで、これまでに発現や機能の解析がなされた報告は検索しうる限りない。組織検体における発現については、シスプラチニン投与を行った31症例において、シスプラチニン投与前のESCC組織におけるcirc_0004365の相対発現量は、病理学的治療効果がGrade2, 3の症例(n=7)で1.3±3.5、Grade 1a, 1bの症例(n=24)で6.4±1.9と治療効果の乏しい症例でcirc_0004365是有意に高発現であった(p=0.02, t検定)。さらにシスプラチニン投与後のESCC組織(n=35)におけるcirc_0004365の相対発現量は、原発巣の病理学的浸潤度がT1, 2の症例(n=10)で1.8±3.8, T3の症例(n=25)で9.0±2.4と浸潤度が高い症例で有意に高発現であることも示された(p=0.02, t検定)。MTTアッセイを用いて48時間のシスプラチニン感受性試験を行ったところ、TE11RではIC50=11.07 μMであった一方でcirc_0004365をノックダウンしたTE11RでIC50=5.75 μMという結果となり、circ_0004365のノックダウンによってシスプラチニンの治療抵抗性が減弱することが示唆された。また、CircInteractomeにてcirc_0004365と結合する配列を持つmiRNAを検索するとmiR-503-5pは結合配列を3つ有することが示唆された。miR-503-5pはCytoscapeにて構築した遺伝子群の相関図でもcirc_0004365との相関性が示唆された。固形がんにおけるシスプラチニン耐性とmiR503-5pの発現低下との関連性については既に報告が散見されており、今後、circ_0004365のシスプラチニン耐性に関するメカニズムにmiR503-5pが関与する可能性について機能解析を行う所存である。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
ESCC細胞株を用いたRNAシークエンスによって検索されたcirc_0004365は、発現解析および機能解析によってESCCにおけるシスプラチニン治療抵抗性に関連していることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山田萌		
論文審査担当者	(職)	氏 名
主 査	大阪大学教授	土岐祐一 署名
副 査	大阪大学教授	猪原昌典 署名
副 査	大阪大学教授	谷内由一 署名

論文審査の結果の要旨

食道扁平上皮癌 (ESCC) はシスプラチン (CDDP) を中心とした化学療法などの集学的治療が進歩しつつあるが予後不良な癌である。non-coding RNAのひとつであるcircular RNA (circRNA) は環状のRNAで内因性転写後調整因子として機能する。本研究はESCCの治療に頻用されるCDDPの治療抵抗性に関連するcircRNAを探索することを目的とした。

ESCCの細胞株TE11とそのCDDP耐性株におけるcircRNAの発現の網羅的解析によって circ_0004365がCDDP耐性に関連することが示唆された。circ_0004365は治療効果の乏しい症例で高発現を示し、病理学的浸潤度が高い症例で高発現を示した。また、circ_0004365のノックダウンによってCDDPの治療抵抗性は減弱した。本研究は初めてcirc_0004365がESCCにおけるCDDP治療抵抗性に関連していることを示した新規性に富んだ報告であり、博士（医学）の学位授与に値する。