




学位論文審査の結果の要旨

令和 2 年 5 月 25 日

審査委員	主査	辻 晃 仁		  
	副主査	桑原 知也		
	副主査	松田 陽子		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
	学籍番号	11D734	氏名	河野 知樹
論文題目	Comprehensive analysis of circulating microRNAs as predictive biomarkers for sorafenib therapy outcome in hepatocellular carcinoma			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

[要 旨]

【はじめに】 進行肝細胞癌に対しては分子標的薬のsorafenibがよく使用されているが、毒性の高さや、奏効率の低さが問題点である。そこで、治療前の有効性や、二次治療に移行するtimingを予測するbiomarkerの開発が急務となっている。

【目的】 sorafenib治療の有効予測biomarkerを血清中のcirculating microRNAから探索する。

【方法】 In vitroのstudyとして、肝癌細胞株7種 (Hep3B、HepG2、Li-7、Alex、HLF、HLE、HuH7) を用いてsorafenibの増殖抑制効果を検討した。また、2555分子のmicroRNAが搭載された高感度array chipを用いて、増殖抑制に関与するmicroRNAの網羅的解析を行った。また臨床sampleを用いたstudyとして、当院にて施行したsorafenib投与90症例の内、完全奏功/部分奏功 (CR/PR) の得られた6症例、対照としてsorafenibに全く効果を示さなかった症例 (PD) 5症例の血清から2555分子のmicroRNAの網羅的解析を行った。

【結果】 有効な肝癌細胞株はLi-7、Hep3B、HepG2、無効群はAlex、HLF、HLEだった。sorafenib有効群と無効群では異なるcluster形成を認め、89分子のmicroRNAは有意な差をもって増減していた。一方臨床sampleでは、sorafenib有効群と無効群とを比較し有意な差をもって増減するmicroRNAは10分子みられた。さらに、sorafenib有効群と無効群で、細胞株とヒト症例に共通して増減するmicroRNAを3分子認めた。そのうち、has-miR-30d-5pは肝癌細胞株の有効群において発現が減弱し、患者血清sampleでは増強する結果となった。has-miR-30d-5pが肝癌細胞から細胞外に分泌されたかを判断するため、real-timePCRを用いて肝癌患者の血清における発現levelを比較すると、有効群の血清およびexosomeでは無効群よりも発現増強を認めた。

【考察】 has-miR-30d-5pは、複数のtarget geneが登録されており、そのうちのGNAI2は癌抑制に関与する転移抑制因子と報告されている。したがって、has-miR-30d-5pの発現が増強すると、GNAI2が抑制され、肝細胞癌の転移、進行を促す。has-miR-30d-5pのexosomeによる積極的分泌は、転移巣における腫瘍細胞の増殖を促している可能性も考えられる。

【結語】 血清中のhas-miR-30d-5pは、肝癌細胞からの漏出による影響を受けない、sorafenib治療における有効予測biomarkerとなりうる可能性が示唆された。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和2年5月22日に行われた。

本研究は血清中のhas-miR-30d-5pが、sorafenib治療における有効予測biomarkerとなりうる可能性があることを指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、臨床的意義があり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士(医学)の学位論文に十分値するものと判定した。

審査においては、

1. 肝細胞癌に対する他の分子標的薬のbiomarkerの報告はあるか。
2. 治療の切り替え時期はどのように判断し、miRNAの発現との関連はあるのか。
3. biomarkerとしてmiRNAを選んだ利点は何か。
4. miRNAが腫瘍組織から血中へ流れて転移を促進するのか。
5. 培養液中とexosome内でのmiRNAを比較した理由は何か。
6. 治療奏功群と無効群との間の生存率等は検討しなかったのか。
7. 治療効果は画像上の腫瘍のsizeのみで判断したのか。
8. 患者sampleにおいて、miRNA発現の細胞内外での比較は行なったのか。
9. Growthが速い細胞株ではmiRNAの発現が増強しているのか。
10. 背景肝の感染 (HBV, HCV) の有無や細胞の分化度の違いがmiRNAの発現に影響するのか。
11. 他の癌種でも同様のmechanismでmiRNAの発現があるのか。
12. has-miR-30d-5pの腫瘍への効果では、血管新生阻害とは別の作用が働いているのか。
13. 他のbiomarkerとhas-miR-30d-5pとの関連はあるのか。

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	Oncology Letters			第 卷, 第 号
(公表予定) 掲載年月	2019年12月10日 掲載受理	出版社(等)名	spandidos-publications	

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。