

報告番号


香大医博甲

第759号

様式107

学位論文審査の結果の要旨

令和 2年 11月 20日

審査委員	主査	鈴木 康之						
	副主査	門脇 則光						
	副主査	舩形 尚						
願出者	専攻	医学	部門					
	学籍番号	16D723	氏名	波間 大輔				
論文題目	The Effect of Gemcitabine on Cell Cycle Arrest and microRNA Signatures in Pancreatic Cancer Cells							
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〕

【背景と目的】膵癌患者の多くは、発見時に局所進行ないし転移により外科的切除が困難な場合が多く、化学療法の適応となる場合は多い。ゲムシタビンは膵癌の化学療法においてキードラッグであり、登場して約20年が経過した現在でも使用されることは多い。しかしながら奏効率は高くなく、効果予測因子も明らかにはされていない。私たちは、一本鎖のノンコーディングRNAであるmiRNAがGEM治療に影響を与え、診断、治療のターゲットとなり得るという仮説を立て、膵管腺癌(PDAC)に対するGEMの効果进行分析し、miRNAの発現状況をin vitroおよびin vitroモデルで検討した。

【方法】1)ゲムシタビン 0~100nMを使用し、2種類のPDAC細胞株(PK-1, PK-9)に対する増殖抑制効果をMTT assayで検討した。2)ゲムシタビンを加えたPK-1の細胞周期変化(G1期, S期, G2/M期)についてflow cytometryで解析した。3)細胞周期関連蛋白の発現をwestern blot法を用いて調べた。4)PK-1microRNA(miRNA)を同定するため、2555遺伝子搭載の高感度マイクロアレイチップを用いて網羅的に解析した。5)18匹のヌードマウスにPK-1(1×10^6 個/匹)を皮下に移植し、ランダムにゲムシタビン0, 40, 80mg/kgの3群に振り分け、5回/週にわたり計6週間継続投与し各群の腫瘍体積をモニタリングした。6)核出した腫瘍組織に対して、Cyclin D1抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果】2種類のPDAC細胞株(PK-1, PK-9)において、共にゲムシタビンは細胞増殖抑制効果を示した。増殖抑制効果を認めたPK-1を用いた検討では、ゲムシタビン添加後S期での停止が誘導され、細胞周期関連蛋白ではCyclinD1, Cdk4, Cdk6の発現の低下を認めた。In vivoにおいて、ゲムシタビン投与により腫瘍組織の増殖は、有意に抑制されており、腫瘍組織に対する免疫染色からも、組織においてもCyclin D1の発現低下が起こっていることが裏付けられた。またゲムシタビン添加によってmiRNAは異なるクラスターを形成していた。

【結語】ゲムシタビンのPDAC細胞における腫瘍増殖抑制効果は、機序として細胞周期関連蛋白の抑制による細胞周期停止の誘導が考えられる。ゲムシタビンの抗腫瘍効果に関連するmiRNAを複数同定することができ、ゲムシタビンによる膵癌治療における効果判定因子や新たな治療法への一助になる可能性がある。

令和2年11月20日に波間大輔氏より本研究に関する発表と、引き続いて学位審査が行われ、指定討論者・主査・副主査より以下の質問があった。

1. In vivo実験でゲムシタビン容量設定の根拠・理由について
2. In vivo実験で使用された高容量ゲムシタビンの忍容性に関して
3. 今回の膵癌モデルの実験と過去の胆管細胞癌モデルの実験におけるmiRNA profileの共通点や相違点について
4. miRNA評価の臨床への応用について
5. リキッドバイオプシーでのmiRNA評価の可否について
6. ゲムシタビン以外の膵癌に有効とされる抗癌剤に関する検討の有無について
7. 本実験で選択的に評価されたmiRNAの選択の理由について（何らかの既報に基づくものか）
8. PK-1細胞株とin vivo実験の腫瘍細胞においてmiRNA profileが全く異なる理由について
9. PK-9や他の膵癌細胞株での実験結果の有無について
10. PanINと膵癌発癌機序に関して
11. ゲムシタビン抗腫瘍効果発現機序に関しての既報の有無について
12. 過去の胆管細胞癌モデルの実験におけるflow cytometryによる細胞周期の変化との相同性について

上記の質問に対し波間大輔氏は適切に応答し、同氏が主動した研究であることが確認された。以上より、同氏は医学の領域において研究者として自立し、独創的な研究活動を行うに必要な研究能力とその基礎となる学識を備えた研究者であると判断し、主査・副主査の3名全員一致で合格と判定した。

掲 載 誌 名	In vivo 第 卷, 第 34 号		
(公表予定) 掲 載 年 月	2020 年 5 月	出版社 (等) 名	International Institute of Anticancer Research

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。