



Title	Downregulation of miRNA-31 induces taxane resistance in ovarian cancer cells through increase of receptor tyrosine kinase MET [an abstract of dissertation and summary of dissertation review]
Author(s)	三田村, 卓
Description	配架番号 : 2057
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11041号
Issue Date	2013-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53199
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Mitamura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 三田村 卓

	主 査 教 授	大 場	雄 介
審査担当者	副 査 教 授	田 中	伸 哉
	副 査 教 授	櫻 木	範 明
	副 査 准教授	濱 田	淳 一

学位論文題名

Downregulation of miRNA-31 induces taxane resistance in ovarian cancer cells
through increase of receptor tyrosine kinase MET.

(miRNA-31 の発現低下により、レセプターチロシンキナーゼ MET の抑制
が解除され、卵巣癌のタキサン耐性が誘導される。)

申請者は、卵巣癌におけるパクリタキセル (paclitaxel, 以下 PTX) に対する耐性と microRNA (miR) の発現との関係を調べ、新しい診断法や治療法への応用の可能性について検討した。まず、親株の卵巣癌細胞株 KFr13 と PTX 耐性を獲得した KFr13Tx 細胞を用い、マイクロアレイ解析により miR の発現量を比較し、KFr13Tx において著明な発現低下の認められた miR-31 に注目した。

次に、6 種類の卵巣癌細胞株、および KFr13Tx における miR-31 過剰発現実験により、PTX 耐性細胞では miR-31 の発現が実際に低下していることを示した。PTX 耐性に関わる miR-31 の標的分子の候補として、MET が挙げられた。KFr13Tx において、RISC 複合体内含まれる MET mRNA の変化、MET 蛋白の発現と miR-31 発現との負の相関、miR-31 と MET mRNA の結合をルシフェラーゼアッセイで確認したこと、を報告した。

in vivo の検討では、miR-31 低発現腫瘍は高発現腫瘍より PTX 治療に抵抗性であったが、PTX に MET 阻害薬を併用することで耐性が解除されることを示した。臨床検体を用いた検討では、化学療法耐性群の 6 例において、感受性群 (6 例) より miR-31 が低発現であった。また全 12 症例において miR-31 と MET の発現との間に負の相関があることを示し、基礎的検討の結果と一致するものであった。

考察では、今後の臨床への応用として miR-31 の発現を化学療法耐性のマーカーとして利用し、miR-31 低発現の症例に対しては従来の化学療法に加えて MET 阻害薬を併用することにより、これまで難治性と考えられてきた腫瘍の治療に役立つのではないかと結論づけた。

質疑応答では、まず副査の濱田准教授より、①RISC 内の miR-31 の発現は確認したのか、②KFr13Tx の MET 活性化の状態、③MET の 3' UTR に変異のある癌の存在、④MET による PTX 耐性誘導の機序、について質問があった。申請者はそれぞれの質問に対して、①RISC 内の miR-31 発現は確認済みであること、②もともと卵巣癌細胞では MET のリン酸化がある程度亢進しており、HGF の存在下ではさらに亢進すること、③MET 3'UTR の miR-31 結合部位に特有の変異は報告がないと思う、④MET リン酸化の際に下流で AKT のリン酸化も亢進しており、MET-AKT 経路が中心的な役割を果たしている可能性がある、と回答した。

次に主査の大場教授より、①PTX 耐性細胞の miR-31 低発現は、元来そのような性質なのか、耐性を獲得する際の後天的な現象なのか、②PTX の感受性を MTT アッセイで確認していたが、細胞周期特異的な増殖抑制効果は確認しているか、と質問があった。申請者は、①元来耐性であるかどうかによらず、PTX 耐性となった時点で miR-31 の発現が低下すると考えている、②アポトーシスが起きていることは確認しているが、細胞周期と関連性については詳細に検討を行っておらず、この点が本研究の限界である、と回答した。

次に副査の田中教授より、①MET を過剰発現させると PTX 耐性が誘導されることは確認したのか、②miR-31 による MET の制御は EMT とは関連していないのか、と質問があった。申請者は、①MET を発現させた KFr13 で PTX 耐性が誘導されること、②type I collagen 誘導のもとで、マトリゲルアッセイでの浸潤が亢進されたことを確認しているが、*in vivo* の癌性腹膜炎モデルの状態は miR-31 の発現の有無で変化がないように見えた、と回答した。

最後に櫻木教授より、①明細胞癌や粘液性腺癌などの臨床的に難治性の組織型についての考察、②miR-31 の発現の変化による細胞の形態的な変化、③化学療法耐性に関連する複数のシグナル伝達経路を同時に制御するような miR の存在、について質問があった。申請者は、①今回の検討では粘液性癌の細胞で最も miR-31 の発現が低く、かつ PTX に対して最も耐性であり、今後注目して検討していく、②形態的な変化は見られなかった、③現在のところまたそのような miR は発見されていないが、今後の課題として研究していく、と回答した。

この論文は、miR による薬剤耐性獲得のメカニズムを明らかにしたものであり、今後の卵巣がんの治療計画策定や診断に新たな展開をもたらすものと期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。