

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 330 号	学位申請者	政 幸一郎
審査委員	主査	小賤 健一郎	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	橋口 照人	副査 秋葉 澄伯
	副査	上野 真一	副査 前村 公成

**miR-30 family promotes migratory and invasive abilities  
in CD133+ pancreatic cancer stem-like cells**

(CD133+膵癌幹細胞様細胞において miR-30 family は遊走と浸潤を促進する)

癌幹細胞コンセプトは癌発生進展のモデルとして注目を集めており、CD133 は膵癌幹細胞マーカーの一つである。これまでに申請者らは、CD133 が膵癌細胞の EMT(Epithelial-mesenchymal transition)を促進することで遊走浸潤に重要な役割を果たしていることを報告してきた。近年、癌の生物学的プロセスに microRNA が関与していることが報告されている。本研究では、膵癌幹細胞モデルの CD133 高発現膵癌細胞株 (Capan-1M9) を用い、CD133 発現の microRNA 発現プロファイルへの影響を解析した。さらに発現変動がみられた microRNA の Capan-1M9 における機能を調べた結果、以下の知見が得られた。

- 1) miRNA マイクロアレイ解析では、CD133 ノックダウン株では WT 株に比べて miR-30a は低発現を示した。さらに、miR-30 ファミリーの定量リアルタイム PCR 解析では、CD133 ノックダウン株では WT 株に比べて miR-30a、-30b、-30c、-30e は低発現であった。
- 2) レンチウイルスベクターを用いて Capan-1M9 に miR-30a、-30b、-30c を遺伝子導入した細胞を作製した。scramble 配列を導入したコントロール細胞と比較して、それぞれの細胞株での細胞形態に変化はみられなかった。
- 3) MTT アッセイ、スフェア形成アッセイでは、miR-30a、-30b、-30c 導入細胞の増殖能、スフェア形成能はコントロール細胞と差はなかった。
- 4) 細胞毒性アッセイでは、miR-30a、-30b、-30c 導入細胞はコントロール細胞に比較して、gemcitabine に対する耐性が高かった。
- 5) 創傷治癒アッセイでは、miR-30a、-30c 導入細胞はコントロール細胞に比較して高い遊走能を示した。また、トランスウェル遊走浸潤アッセイでは miR-30a、-30b、-30c 導入細胞はコントロール細胞に比較して高い遊走能、浸潤能を示した。
- 6) 定量リアルタイム PCR によるコントロール細胞と miR-30a、-30b、-30c 導入細胞との mRNA 比較解析では、間葉系マーカーの fibronectin は miR-30a、-30b、-30c 導入細胞で、vimentin は miR-30a、-30c 導入細胞で、N-cadherin は miR-30a で高発現を示した。Western blot 解析では、fibronectin と N-cadherin 蛋白はコントロール細胞に比べて miR-30a、-30b、-30c 導入細胞で高発現を示した。

本研究によって、miR-30 ファミリーの発現は CD133 によって調節されており、CD133 陽性膵癌細胞では遊走浸潤能を促進することが示された。また、そのメカニズムとして間葉系形質の関与が示唆された。これらの結果は CD133 陽性膵癌幹細胞様細胞に対して miR-30 ファミリーを標的とする新しい治療法開発に寄与する可能性を示している。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。