



MicroRNA let-7d targets thrombospondin-1 and inhibits the activation of human pancreatic stellate cells

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-11-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浅間, 宏之 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000329

論文内容要旨

しめい 氏名	あさま ひろゆき 浅間 宏之
学位論文題名	MicroRNA let-7d targets thrombospondin-1 and inhibits the activation of human pancreatic stellate cells. (MicroRNA let-7d は thrombospondin-1 を標的として膵星細胞の活性化を抑制する)
<p>〈背景〉 MicroRNA (miR)は 18-25 塩基長からなる non-coding RNA であり、遺伝子発現の制御などにより悪性腫瘍の発生や進行に関与することが知られている。膵癌細胞株とヒト膵星細胞 (hPSC) の共培養により hPSC を活性化し miR の発現量を測定し、miR let-7d (let-7d) の発現が大きく減少していることが確認された。また、hPSC に let-7d の阻害剤をトラスフェクションしたところ、hPSC が活性化し線維化マーカーの上昇を認めた。本研究では let-7d が hPSC の活性化を制御するメカニズムを調べた。</p> <p>〈方法〉 let-7d の標的遺伝子として、transforming growth factor-β (TGF-β) の活性化因子の一つである thrombospondin-1 (THBS-1) に着目し、hPSC における let-7d の発現を増強させ、THBS-1 の発現量を western blot 法と real time PCR 法にて測定した。また、let-7d の標的遺伝を確認するため、luciferase assay を施行した。THBS-1 を抑制した hPSC において、線維化マーカー (αSMA, collagen-1A1) の変化を western blot 法と real time PCR 法で確認した。The Cancer Genome Atlas 計画 (TCGA) から利用可能な遺伝子データベースを二次利用し、let-7d および THBS-1 の発現量と、遺伝子発現のデータから腫瘍内の間質反応量を推定する stromal score との相関を検証した。さらに、植物由来イソフラボンの一種であり、チロシンキナーゼ阻害作用や抗血管新生作用が報告されている genistein を膵星細胞へ添加し、let-7d および THBS-1 と線維化マーカーの発現に与える影響を調べた。</p> <p>〈結果〉 Let-7d の発現増強により THBS-1 の発現量は抑制されており、luciferase assay にて let-7d が THBS-1 の 3'非翻訳領域へ結合し発現を抑制していることが確認された。また、THBS-1 の発現抑制により線維化マーカーの低下を認めたことから、let-7d は THBS-1 の発現を抑制することにより hPSC の活性化を抑制していることが示された。TCGA のデータにより、膵癌における let-7d の発現量と THBS-1 の発現量は逆相関を示しており、let-7d は stromal score と逆相関し、THBS-1 は stromal score と相関していた。genistein は let-7d の発現を誘導し、THBS-1 抑制を介して線維化マーカーの発現を抑制していることが確認された。</p> <p>〈結論〉 Let-7d は THBS-1 を標的として hPSC の活性化を抑制することが示された。また、genistein は let-7d の発現を誘導して膵線維化を抑制することが示唆された。</p>	

学位論文審査結果報告書

令和2年7月13日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

【審査結果要旨】

氏名 浅間 宏之

学位論文題名

MicroRNA let-7d targets thrombospondin-1 and inhibits the activation of human pancreatic stellate cells. (MicroRNA let-7d は thrombospondin-1 を標的として膵星細胞の活性化を抑制する)

膵癌では、腫瘍の線維化が治療抵抗性と関連しており、その線維化は膵星細胞 (hPSC) の活性化によってもたらされる。本研究では、hPSC を用いて、MicroRNA である let-7d に着目し、これまでに共著者らが報告してきた let-7d による hPSC の活性化が、線維化を促進するメカニズムについて検討した。

本研究で、Let-7d は target 遺伝子である thrombospondin-1 (THBS1) を介して、TGF- β の発現を調節すること、さらに、hPSC による α -SMA や COL1A1 の産生を抑制することを示した。また、let-7d を誘導するフラボノイドである Genistein による、hPSC の THBS1、 α SMA、COL1A1 の遺伝子発現抑制、蛋白産生抑制を示した。

以上のように、MicroRNA let-7d が hPSC に作用し、THBS1、TGF- β を介して線維化抑制に働く事を明確に示した、大変意義のある研究である。

本研究は、これまでの研究をベースに、新たな知見を示すものでオリジナリティーがあり、学位に値すると考える。

論文審査委員	主査	丸橋 繁
	副査	橋本 優子
	副査	渡邊 尚文