

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 恒富 亮一

### 〔題名〕

*RAB3B* の発現上昇は肝がんの化学療法抵抗性と転移能に重要な役割を果たす

### 〔要旨〕

背景：がん幹細胞（CSC）は、発がん、再発、転移、治療抵抗性に重要な役割を果たすと考えられている。我々は、化学療法抵抗性と転移能を有するがん幹細胞様スフェア細胞（CSLC）の誘導に成功した。CSLC に対する標的治療の開発を可能にするため、CSLC のこの表現型の原因となる遺伝子を同定した。

方法：ヒト肝がん細胞株 SK-HEP-1 を用い、独自のスフェア誘導培地を用いて CSLC を誘導し、HuH-7 細胞を非スフェア形成細胞として同条件で使用した。RNA シーケンシングを行った後、定量的 RT-PCR とウェスタンブロッティングで検証した。ノックダウン（KD）実験は CRISPR-Cas9 によるゲノム編集により行い、レスキュー実験は発現プラスミドベクターを用いて行った。細胞の化学療法抵抗性と肝転移は、MTS アッセイと細胞の重度免疫不全マウスへの脾臓注入後の解析で評価した。培地中のエクソソームの定量は、ELISA 法を用いて行った。

結果：*RAB3B* は、RNA シーケンシングにより CSLC と予後不良の肝細胞がん（HCC）の両方で発現が増加している遺伝子として同定された。*RAB3B*-KD 細胞は、スフェア形成、化学療法抵抗性、転移能などの CSLC 表現型の変化を示し、これらは *RAB3B* の相補化によって回復された。CSLC ではエクソソーム分泌の増加が観察されたが、*RAB3B*-KD 細胞では観察されなかった。また、*RAB3B* の発現は、*ABCG2*、*APOE*、*LEPR*、*LXN*、*TSPAN13* の発現と関連していた。

結論：*RAB3B* のアップレギュレーションは、CSLC の化学療法抵抗性と転移能に重要な役割を担っている可能性がある。

学位論文審査の結果の要旨

令和 5年 / 月 30日

報告番号	乙 第 <b>1105</b> 号	氏 名	恒富 亮一
論文審査担当者	主査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	高見 太郎	
	副査教授	小野 浩昭	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) RAB3Bの発現上昇は肝がんの化学療法抵抗性と転移能に重要な役割を果たす			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Elevated expression of RAB3B plays important roles in chemoresistance and metastatic potential of hepatoma cells (RAB3Bの発現上昇は肝がんの化学療法抵抗性と転移能に重要な役割を果たす) 掲載雑誌名 BMC Cancer 第22巻 第 1号 P. 260 (2022年 5月 掲載) 著者 (全員を記載) 恒富亮一, 吉村清, 木村裕太, 西山光郎, 藤原信行, 松隈聡, 兼清信介, 松井洋人, 新藤芳太郎, 渡邊裕策, 徳光幸生, 吉田晋, 飯田通久, 鈴木伸明, 武田茂, 井岡達也, 砂彰一, 永野浩昭			
(論文審査の要旨) <p>がん幹細胞 (CSC) は、発がん、再発、転移、治療抵抗性に重要な役割を果たすと考えられている。申請者は、化学療法抵抗性と転移能を有するがん幹細胞様スフィア細胞 (CSLC) の誘導に成功し、CSLC に対する標的治療の開発を可能にするため、CSLC のこの表現型の原因となる遺伝子を同定が行われた。</p> <p>申請者は、ヒト肝がん細胞株 SK-HEP-1 を用い、独自のスフィア誘導培地を用いて CSLC を誘導し、HuH-7 細胞を非スフィア形成細胞として同条件で使用した。RNA シーケンシングを行った後、定量的 RT-PCR とウェスタンブロッティングで検証した。ノックダウン (KD) 実験は CRISPR-Cas9 によるゲノム編集により行い、レスキュー実験は発現プラスミドベクターを用いて行った。細胞の化学療法抵抗性と肝転移は、MTS アッセイと細胞の重度免疫不全マウスへの脾臓注入後の解析で評価した。培地中のエクソソームの定量は、ELISA 法を用いて行った。</p> <p>結果として、RAB3B は、RNA シーケンシングにより CSLC と予後不良の肝細胞がん (HCC) の両方で発現が増加している遺伝子として同定された。RAB3B-KD 細胞は、スフィア形成、化学療法抵抗性、転移能などの CSLC 表現型の変化を示し、これらは RAB3B の相補化によって回復された。CSLC ではエクソソーム分泌の増加が観察されたが、RAB3B-KD 細胞では観察されなかった。また、RAB3B の発現は、ABCG2、APOE、LEPR、LXN、TSPAN13 の発現と相関していた。</p> <p>以上から、RAB3B のアップレギュレーションは、CSLC の化学療法抵抗性と転移能に重要な役割を担っている可能性があることを申請者は示した。</p> <p>本研究は、肝がん CSLC における CSC 表現型獲得に RAB3B のアップレギュレーションが重要であることを明らかにし、肝がん転移抑制のための治療標的としての RAB3B の可能性を示した論文である。 よって、学位論文として十分な価値があるものと認められた。</p>			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。