

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名

玉置 明寛



論 文 題 目

「REV7 is involved in outcomes of platinum-based chemotherapy  
in pancreatic cancer by controlling the DNA damage response」

(REV7 は DNA 損傷応答を制御することで、膵癌における白金製剤を用いた  
化学療法の結果に関与する)

指 導 教 授 承 認 印

村 雲 芳 樹



# 「REV7 is involved in outcomes of platinum-based chemotherapy in pancreatic cancer by controlling the DNA damage response」

(REV7 は DNA 損傷応答を制御することで、膵癌における白金製剤を用いた化学療法の結果に関与する)

氏名 玉置 明寛

## 【背景/目的】

膵癌の5年生存率は10%程度であり、80%以上の患者が切除不能な状態で診断に至る予後不良な悪性腫瘍である。病理学的に膵腺管癌(PDAC)は最も一般的な組織型であり、高い浸潤性と豊富な線維性間質を伴い化学療法抵抗性を示す。PDACの予後を改善するためには、切除不能症例や術後再発症例に対する有効な抗癌剤治療の開発が重要である。しかしながら、現在までに切除不能および再発PDACに対して使用可能な分子標的薬はわずかであり、PDACに対する有効な新たな分子標的薬の開発が望まれる。

REV7(MAD2L2、MAD2B、MAD28、FANCV)はDNA損傷応答、細胞周期制御、遺伝子発現、エピジェネティクスなど、様々な生物学的過程に関与する多機能タンパクである。その中でも、REV7はDNA損傷応答におけるtranslesion synthesis(TLS)とnon-homologous end joining(NHEJ)において重要な役割を担っていることから、double strand break(DSB)を伴う化学療法の感受性への関与が示唆されている。これまでに、他の癌腫で腫瘍細胞におけるREV7の高発現が予後不良と関係することやREV7をノックダウンすると白金製剤の感受性が亢進することが報告されているが、膵癌に関連する報告は現時点で存在しない。

本研究は、臨床検体を用いた免疫組織化学染色と膵癌細胞株を用いた*in vitro/vivo*での機能解析により、PDACにおけるREV7の役割を明らかにすることを目的とした。

## 【方法】

切除可能PDACの手術標本(92例)と切除不能PDACのEUS-FNAB標本(60例)とを用いて免疫組織化学染色を行い、PDACにおけるREV7発現と症例の臨床病理学的因子及び予後との関係を解析した。

PDACにおけるREV7発現の生物学的意義については、ヒト膵癌細胞株であるPANC-1およびMIA PaCa-2を用いてCRISPR/Cas9システムによりREV7ノックアウト(KO)細胞株を樹立した。REV7 KO細胞株と野生型の細胞株を用いて、細胞増殖と抗癌剤感受性およびRNAを用いた解析を行った。

## 【結果】

切除可能 PDAC 標本(手術症例 92 例)の解析では、REV7 発現と臨床病理学的因子との間に有意な関連はみられなかったが、REV7 高発現群は T 因子( $p=0.067$ )と病理組織学的 grade( $p=0.059$ )が高い傾向にあった。また、予後についても REV7 高発現群で無病生存期間、全生存期間が短い傾向(無病生存期間  $p=0.054$ 、全生存期間  $p=0.061$ )にあった。

切除不能 PDAC 標本(EUS-FNAB 症例 60 例)の解析では、腫瘍細胞における REV7 の高発現は Ki-67 LI と有意( $p=0.048$ )に関連し、REV7 発現と細胞増殖との関連が示唆された。予後については、REV7 高発現群で無増悪生存期間が有意に短く( $p=0.024$ )、全生存期間も短い傾向が認められた( $p=0.090$ )。REV7 発現と治療による病勢コントロール率(DCR)の解析では、白金製剤使用期間における DCR は REV7 低発現群で明らかに良好(REV7 低発現群:81%、REV7 高発現群:50%、 $p=0.023$ )であった。これらの結果より、REV7 の発現低下は白金製剤を用いた化学療法に対する高感受性、良好な転帰との相関が示唆された。

細胞株を用いた解析では、PANC-1 および MIA PaCa-2 の両細胞株において、野生型に比べ全ての *REV7KO* 細胞株で細胞増殖能の低下と cisplatin 感受性の亢進がみられた。また、*REV7KO* 細胞株を移植した担癌マウスでは、野生型に比べて cisplatin 投与による明らかな腫瘍縮小効果が得られ、膵癌において *REV7KO* により cisplatin 感受性が亢進することが *in vitro/vivo* で確認できた。

野生型と *REV7KO* 細胞株を用いた RNA-seq 解析では、REV7 の不活化が DNA 修復に関与する遺伝子、特に TLS と DSB に関与する遺伝子の発現低下とアポトーシスに関与する遺伝子の発現増加を促進することが明らかとなった。

本研究では臨床材料と PDAC 細胞株を用いて PDAC における REV7 発現の意義を解析し、膵癌細胞におけるその役割を明らかにした。REV7 は白金製剤を用いた化学療法の効果を予測する有用なマーカーであるとともに、分子標的にもなりうることが示唆された。