

## 論文内容の要旨

氏名	高木 忠隆
Lauric acid overcomes hypoxia-induced gemcitabine chemoresistance in pancreatic ductal adenocarcinoma  (和 訳) 膵癌におけるラウリン酸による低酸素誘導性ゲムシタビン抵抗性の克服	

### 論文内容の要旨

【背景と目的】我々は低酸素が化学療法抵抗性に寄与することを見出したが、その機序は明らかでない。本研究の目的は、低酸素による化学療法抵抗性獲得の機序を明らかにし、それを克服する治療戦略を開発することである。

【方法】ヒト膵癌細胞株とマウス膵癌細胞株を用いて CoCl<sub>2</sub> (150 μM) による低酸素下に gemcitabine (GEM) 投与し増殖能を検討した。次に、dihydrorhodamine123 を用いて GEM 投与後の reactive oxygen species (ROS) 産生を、tetramethylrhodamine ethyl ester を用いて Mitochondria 膜電位を調べた。またエネルギー代謝の変化を確認するために Flux 解析を行った。最後に低酸素による Stemness 獲得を調べるために Stem cell marker (C-Myc, Oct-3/4, CD24, CD44, CD133) 発現を解析し、Sphere formation assay を行った。

【結果】低酸素下では GEM 投与による阻害率が著明に低下した。GEM 投与により、正常酸素下で ROS 上昇を認めたが、低酸素下では ROS 上昇を認めなかった。Flux 解析にて、低酸素下では酸化的リン酸化と解糖系がいずれも抑制されており quiescent 近似状態にあった。次に、継続的に低酸素下で GEM 投与した細胞株を樹立した所、ROS 産生と Mitochondria 膜電位は低下していた。しかし、正常酸素下に戻すと ROS 上昇を認めた。よって、低酸素による Mitochondria 機能障害が化学療法抵抗性獲得に寄与し、正常酸素に戻すことで細胞障害が起こると考えられた。Stemness を検討すると、低酸素によって Stem cell marker 発現が亢進し Tumorsphere formation efficiency (TFE) が上昇した。さらに、低酸素かつ GEM 投与下で Sphere size は縮小していたが、TFE 上昇を同様に認めた。ヒト膵癌細胞株に Gemcitabine (GEM) と CoCl<sub>2</sub> を継続的投与することで、2つの GEM 耐性株を樹立した。一方の耐性株はエネルギー産生の低下とミトコンドリア ROS の減少を示し、もう一方の株は幹細胞性の増加を示した。両株とも ethidium bromide 染色したミトコンドリア DNA レベルが低下し、ミトコンドリア DNA の損傷が示唆された。

次に中鎖脂肪酸であるラウリン酸 (LAA) で両細胞株を処理すると、GEM 感受性が回復した。

【結論】GEM によるミトコンドリア損傷に伴うエネルギー産生の低下、ミトコンドリア ROS の低下、幹細胞性の増加が GEM 抵抗性に繋がり、低酸素がこの過程を促進させると考えられた。さらに LAA による酸化的リン酸化の強制的な活性化が、GEM 抵抗性獲得を克服する新たな治療戦略になりうると考えられた。