

タナカ ショウタ

氏名(本籍)	田中 章太 (大阪府)
学位の種類	博士 (薬学)
学位記番号	博第 34 号
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 9 日
学位授与の条件	学位規程第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	ヒト大腸がん細胞株 <b>SW620</b> 細胞におけるオキサリプラチン抵抗性と浸潤能に関する研究
論文審査委員	主 査 教 授 北川 裕之 副 査 教 授 岩川 精吾 副 査 教 授 小西 守周 副 査 教 授 力武 良行

## 論文内容の要旨

### 結 論

大腸がん治療の主な問題点の一つとしてがん細胞の遠隔転移がある。大腸がんは肝臓や肺に転移し易く、肝臓や肺に転移後に全身に転移すると考えられている。そのため、遠隔転移を認める切除不能な大腸がん患者に対して、増殖速度の遅延や全身へのさらなる転移の抑制を目的に化学療法が行われる<sup>1,2)</sup>。しかし、日本での遠隔転移を認める大腸がん患者の5年生存率は、未だ20%以下と著しく低い<sup>3)</sup>。そのため、大腸がんの遠隔転移を抑制するがん化学療法を開発することは、治療成績向上のための重要な課題である。

オキサリプラチン (L-OHP、図 1) は大腸がん治療の中心的な抗悪性腫瘍薬の一つであり、遠隔転移を認める大腸がん患者にも繰り返し投与される。しかし、L-OHP の投与回数を重ねることに伴って、残存するがん細胞が L-OHP に対して抵抗性を獲得した場合、再発や転移に繋がり、生存期間が短縮する。

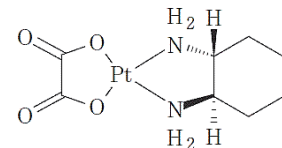


図 1 オキサリプラチン (L-OHP)

大腸がん細胞の転移過程において、高い細胞接着性と厳格な細胞極性を持つ上皮細胞の状態から、細胞運動能の亢進した間葉系細胞の状態へと変化する上皮間葉転換 (epithelial- mesenchymal transition: EMT) が誘導される。EMT は、zinc finger E-box binding homeobox 1 (ZEB1) や、Snail などのいくつかの制御因子により制御され、これらの誘導因子の発現が上昇して、上皮細胞に発現している接着因子である E-cadherin の発現の抑制や、間葉細胞に特異的に発現する vimentin の発現増加、細胞形態の変化などが観察される。さらに、L-OHP に対する抵抗性獲得によっても、EMT が誘導されることが明らかになっている<sup>4)</sup>。そのため、L-OHP に対する抵抗性を獲得した大腸がん細胞の転移を抑制することは重要な課題である。

DNA のメチル化は、塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御機構であるエピジェネティック修飾として知られており、一部の遺伝子のプロモーター領域に存在するグアニンとシトシンの繰り返し配列である CpG アイランドのシトシンがメチル化されることで、コードしている RNA へ

の転写が抑制される。DNA メチル基転移酵素 (DNMT) は、その DNA のメチル化を誘導する酵素として知られている。がん細胞の転移に関連する一部の遺伝子や microRNA (miRNA) の発現の制御に、DNA のメチル化が関与している。そのため、DNMT 阻害薬として知られているデシタビン (DAC) やアザシチジン (AC)、ゼブラリン (Zeb) はがん細胞の転移を抑制する可能性がある (図 2)。

そこで、大腸がん細胞の浸潤能抑制に着目したがん化学療法を開発するため、mRNA に抑制的に働く miRNA、RNA の転写に関与するエピジェネティック修飾、新たなバイオマーカーとして注目されている exosome 中の miRNA に着目し、同一患者から単離されたヒト大腸がん細胞株で低浸潤性を示す原発巣由来の SW480 細胞と高浸潤性を示すリンパ節転移巣由来の SW620 細胞及び L-OHP 抵抗性 SW620 細胞 (SW620/OxR 細胞) を用いて検討した。まず、L-OHP 抵抗性を示す SW620 細胞を作製し、その細胞の EMT 関連因子や miRNA の発現量について検討した。次に、SW620/OxR 細胞、SW480 細胞及び SW620 細胞を用いて、浸潤能や exosome 中の miR-200 ファミリーの発現レベルに及ぼす DAC の影響について検討した。さらに、これら 3 細胞を用いて、浸潤能に及ぼす各種 DNMT 阻害薬の影響について比較検討した。そして exosome 中の let-7 ファミリーの発現レベルに及ぼす Zeb の影響について検討した。

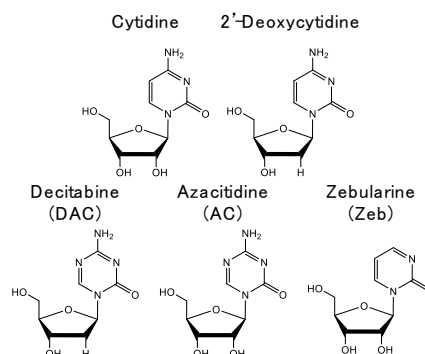


図 2 シチジン、2'-デオキシシチジン及び DNMT 阻害薬

## 第 1 章 オキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞における上皮間葉転換の誘導と miR-200c 及び miR-141 の変化

EMT と抗悪性腫瘍薬に対する抵抗性との関連性は様々ながん細胞において数多く報告されており、抗悪性腫瘍薬に対する抵抗性を獲得したがん細胞は間葉系細胞の特性を示すことも知られている。Yang らは、ヒト大腸がん細胞株 KM12L4 細胞及び HT29 細胞において、L-OHP に対する抵抗性を獲得した場合に、EMT が誘導されていることを報告した<sup>4)</sup>。

近年、miRNA による EMT の制御の重要性が認められている。miRNA はタンパク質をコードしていない 20 から 25 塩基程度の一本鎖 RNA であり、mRNA の生成を抑制する。上皮細胞の特徴を示すがん細胞においては、miR-200 ファミリーが特異的に発現している<sup>5)</sup>。miR-200 ファミリーや miR-205 は、EMT の誘導因子である ZEB1 の発現低下を介し、EMT を抑制することが報告されている<sup>5-7)</sup>。そのため、miR-200 ファミリーなどは、L-OHP 抵抗性獲得による EMT 誘導を抑制するための新たな治療標的となる可能性が推測できた。しかし、ヒト大腸がん細胞が L-OHP 抵抗性を獲得する過程での EMT の誘導において、miR-200 ファミリーの関与は明らかになっていない。そこで、本章では、L-OHP 抵抗性 SW620 細胞を作製し、EMT 関連因子、運動能及び浸潤能の変化について検討した。さらに、EMT の誘導を抑制する miR-200 ファミリーや miR-205 の発現量について比較検討した。

### 実験方法

ヒト大腸がん細胞株 SW620 細胞を用い、L-OHP に対する抵抗性を獲得させるために、L-OHP の長期処置を行った。処置する L-OHP の濃度は約 1 ヶ月ごとに段階的に上昇させた。L-OHP に対する感受性の変化は、WST-8 アッセイを用いて L-OHP の IC<sub>50</sub> 値を算出し、追跡した。mRNA 及び miRNA の発現量は real-time RT-PCR により定量し、タンパク質の発現量は western blot assay に

より測定した。運動能及び浸潤能の変化は Transwell migration assay 及び Transwell invasion assay により評価した。

## 結果・考察

SW620 細胞に対し、L-OHP の長期処置を行ったところ、SW620 細胞の L-OHP に対する感受性は徐々に低下し、L-OHP の 155 日間処置により、L-OHP の IC<sub>50</sub> 値は約 16 倍に上昇した。この結果より、L-OHP を 155 日間処置した SW620 細胞を SW620/OxR 細胞として、以下の検討に用いた。

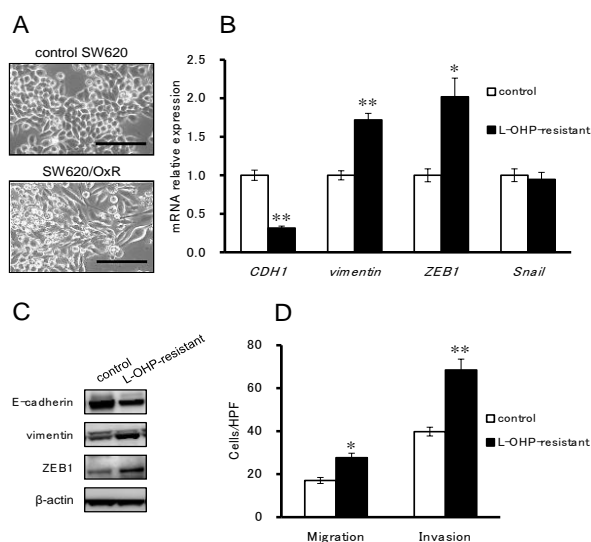


図3 SW620/OxR 細胞における EMT 関連因子と転移能の変化

- A: 各細胞の形態学特徴の比較 (Scale bar: 100 μm)  
 B: EMT 関連因子の mRNA 発現量の比較  
 C: EMT 関連因子のタンパク質発現量の比較  
 D: 運動能及び浸潤能の比較  
 \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  (Unpaired Student's  $t$ -test) (n=3)

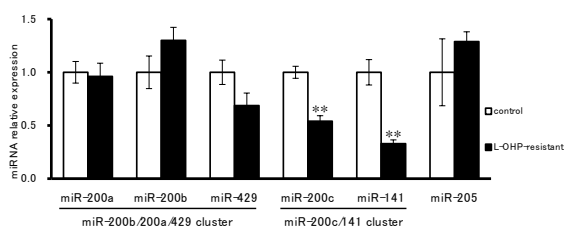


図4 miR-200 ファミリーと miR-205 の発現量の比較

SW620/OxR 細胞における miR-200 ファミリーと miR-205 の発現量の control SW620 細胞との比較  
 \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  (Unpaired Student's  $t$ -test) (n=3 to 5)

SW620/OxR 細胞は control SW620 細胞と比較して、より楕円形の形態を示した (図 3A)。

次に EMT 関連因子について検討した結果、SW620/OxR 細胞において、上皮細胞マーカーである E-cadherin をコードしている *cadherin 1* (*CDH1*) の mRNA 発現量は低下し、間葉細胞マーカーである *vimentin* 及び *ZEB1* の mRNA 発現量は増加した (図 3B)。一方で、*Snail* の mRNA 発現量に有意な変化は認めなかった (図 3B)。同様に、E-cadherin のタンパク質発現量は、SW620/OxR 細胞において低下し、*vimentin* 及び *ZEB1* のタンパク質発現量は増加した (図 3C)。さらに、SW620/OxR 細胞の運動能及び浸潤能は、有意に亢進していた (図 3D)。

miR-200 ファミリーと miR-205 の発現量について検討したところ、SW620/OxR 細胞において、クラスターを形成する miR-200c 及び miR-141 の発現量は、有意に減少した (図 4)。miR-200a、miR-200b、miR-429 及び miR-205 の発現量は両細胞間において、有意な差は認められなかった (図 4)。

以上の結果から、SW620 細胞では、L-OHP に対する抵抗性を獲得する過程において、EMT 誘導により運動能及び浸潤能が亢進することが示唆された。さらに、miR-200c 及び miR-141 の発現量低下が L-OHP 抵抗性の獲得による EMT の誘導を亢進する可能性を示した。

## 第2章 オキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞における浸潤能と exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルに及ぼすデシタピンの影響

がん転移に関連する一部の遺伝子や miRNA の発現の制御に、DNA のメチル化が関与している。近年、転移を認める大腸がん患者のがん組織でも、がん細胞の EMT は miR-200c/141 をコードする DNA のメチル化により制御されることが示唆されている<sup>8-10)</sup>。また、EMT 関連因子や転移能に及ぼす DAC の影響はがん細胞の特性により異なることが報告された<sup>11,12)</sup>。しかし、L-OHP に

に対する抵抗性を獲得し、転移能が亢進した大腸がん細胞における DAC の影響についての報告は乏しい。また、miRNA は exosome により細胞外へと移行し、exosome 中の miRNA は、放出した細胞の特性を反映することが知られている<sup>13)</sup>。そこで本章では、SW480 細胞、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞を用い、浸潤能及び EMT 関連因子の発現量に及ぼす DAC の影響を比較検討した。さらに、exosome 中の miR-200c と miR-141 の発現レベルが大腸がん細胞の浸潤能を表す指標となる可能性が考えられた。そこで、exosome 中の miR-200c と miR-141 発現レベルに及ぼす DAC の影響について検討した。

## 実験方法

SW480 細胞、SW620 細胞及び第 1 章で作製した SW620/OxR 細胞を用い比較検討した。各細胞に 2  $\mu$ M DAC を処置、または、DNMT 阻害作用を示さない 0.3  $\mu$ M シタラビン (Ara-C) をネガティブコントロールとして処置し、72 時間後に運動能、浸潤能、タンパク質発現量及び miRNA 発現量の変化を第 1 章と同様の方法を用い測定した。また、exosome は培養培地より超遠心法を用いて回収し、RNA を抽出後、exosome 中の miRNA を real-time RT-PCR により定量した。

## 結果・考察

運動能及び浸潤能について検討した結果、表 1 に示すように SW480 細胞では、Ara-C を処置した細胞と DAC を処置した細胞の間で運動能及び浸潤能に有意な差は認めなかった。一方で、SW620/OxR 細胞において、コントロール及び Ara-C 処置を行った細胞と比較して、DAC を処置した細胞の運動能は抑制された。さらに、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、DAC 処置により浸潤能は抑制された。

表 1 DAC 処置による運動能及び浸潤能の変化

Cell line	Migration cells/ High-power field ( $\times 200$ )			Invasion cells/ High-power field ( $\times 200$ )		
	control	Ara-C	DAC	control	Ara-C	DAC
SW480	8.8 $\pm$ 0.9	7.4 $\pm$ 0.5	5.5 $\pm$ 0.8*	4.7 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.2**	1.9 $\pm$ 0.3**
SW620	17.5 $\pm$ 1.9	15.7 $\pm$ 1.8	12.1 $\pm$ 1.4	36.1 $\pm$ 2.9	30.6 $\pm$ 1.7	20.9 $\pm$ 0.6**†
SW620/OxR	20.8 $\pm$ 1.2	20.2 $\pm$ 0.7	16.1 $\pm$ 0.7*†	65.5 $\pm$ 3.3	45.9 $\pm$ 2.5**	31.4 $\pm$ 2.4**††

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  significantly different from control cells, † $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$  significantly different from Ara-C treatment cells (Student-Newman-Keuls test) (n=3)

EMT 関連因子に及ぼす DAC の影響について検討したところ、SW480 細胞では、Ara-C を処置した細胞と DAC を処置した細胞間で E-cadherin のタンパク質発現量に差は認められず、処置の有無に関わらず vimentin のタンパク質発現量は検出限界以下だった (図 5A)。一方、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、Ara-C 処置と比較して、DAC 処置により E-cadherin のタンパク質発現量は増加し、vimentin のタンパク質発現量は変化しなかった (図 5A)。また、細胞内の miR-200c 及び miR-141 の発現量は、DAC 処置により SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において有意に増加したが、SW480 細胞では有意な増加は認めなかった (図 5B)。

次に、exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルに及ぼす DAC 処置の影響及び浸潤能との相関性について検討した。DAC を処置した SW480 細胞において、コントロール及び Ara-C を処置した SW480 細胞と比較して、exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルは変化しなかった (図 6A)。一方で、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、exosome 中の miR-200c 及び miR-141 発現レベルは DAC 処置により有意に増加した (図 6A)。さらに、これらの exosome 中の miR-200c 及び miR-141 発現レベルは浸潤能の増大に伴い低下した (図 6B)。

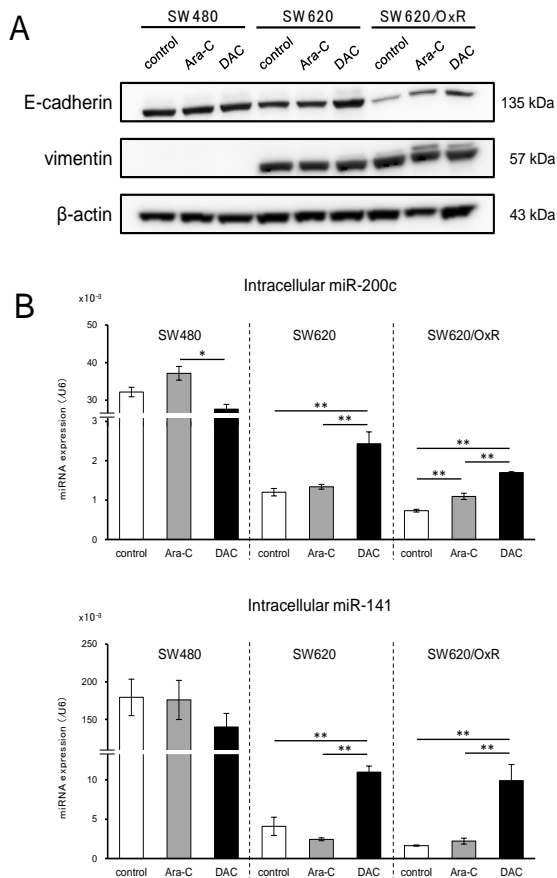


図5 EMT 関連因子に及ぼす DAC の影響

A: EMT 関連因子のタンパク質発現量の比較  
 B: miR-200c 及び miR-141 の細胞内 miRNA 発現量  
 $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$   
 (Student-Newman-Keuls test) (n=3)

以上の結果より、L-OHP 抵抗性ヒト大腸がん細胞において、DAC 処置により上皮細胞マーカーの発現量の増加とともに浸潤能が抑制されることを認めた。さらに、exosome 中の miR-200c 及び miR-141 発現レベルが浸潤能を表す指標となる可能性を示した。

### 第3章 オキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞における浸潤能と上皮間葉転換関連因子の発現量に及ぼす各種 DNA メチル基転移酵素阻害薬の影響及び exosome 中の let-7b 発現レベルに及ぼすゼブラリンの影響

各種の DNMT 阻害薬が開発されているが、個々の DNMT 阻害薬はそれぞれ影響を及ぼす遺伝子が異なることが、Flotho らの検討などにより明らかにされた<sup>14)</sup>。各種 DNMT 阻害薬は DNA に組み込まれ、主に DNMT1 と強固に結合し、その活性を抑制するが、AC は RNA にも組み込まれ、タンパク質合成阻害を引き起こすことでも殺細胞作用を示す。また、Zeb は DNMT 以外にも DNMT 阻害薬の不活化酵素であるシチジン脱アミノ化酵素を阻害する。また、let-7 ファミリーはがん抑

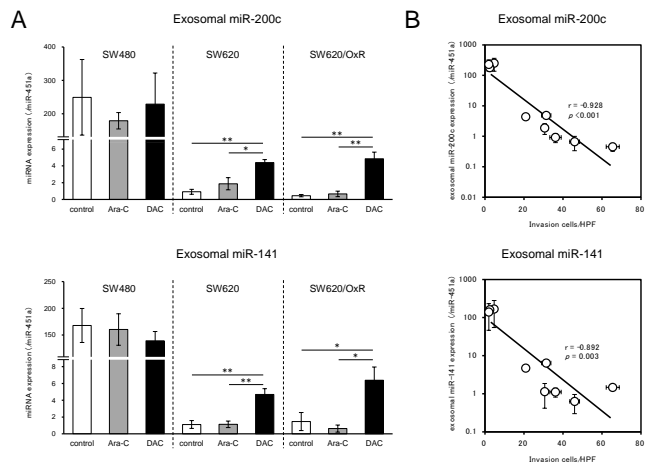


図6 exosome 中の miR-200c 及び miR-141 発現レベルに及ぼす DAC の影響

A: exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルの比較  
 B: 浸潤能と exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルの相関性  
 $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  (Student-Newman-Keuls test) (n=3)

制関連 miRNA として、転移や細胞増殖、アポトーシスなどに関与する多くの遺伝子に影響を及ぼすことが明らかになっており、AC 処置では増加しないが、Zeb 処置によって増加することが報告された<sup>15)</sup>。さらに Kobayashi らは、高浸潤性卵巣がん細胞に比べ、低浸潤性卵巣がん細胞の exosome 中の let-7 ファミリーの発現レベルが低いことを報告した<sup>13)</sup>。そこで、本章では、浸潤能及び EMT 関連因子の発現量に及ぼす DNMT 阻害薬の影響について比較検討した。さらに、転移を抑制する miRNA である let-7 ファミリーの細胞内及び exosome 中の発現レベルに及ぼす Zeb 処置の影響について検討を行った。

## 実験方法

SW480 細胞、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞に、2  $\mu$ M DAC、3  $\mu$ M AC、あるいは 150  $\mu$ M Zeb を 72 時間処置し、第 2 章と同様の方法を用い、浸潤能、miRNA 発現量、タンパク質発現量及び exosome 中の miRNA 発現量の比較検討を行った。

## 結果・考察

浸潤能の変化について検討したところ、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、コントロールと比較して、AC 処置により浸潤能が亢進した。また、SW480 細胞、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において DAC または Zeb 処置により浸潤能が抑制された (表 2)。

表 2 DNMT 阻害薬処置による浸潤能の変化

Cell line	Invasion cells/ High-power field ( $\times 200$ )			
	control	DAC	AC	Zeb
SW480	8.3 $\pm$ 0.5	2.9 $\pm$ 0.3**	6.9 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 1.0*
SW620	61.6 $\pm$ 4.1	41.5 $\pm$ 2.0**	85.7 $\pm$ 2.9**	27.5 $\pm$ 1.5**
SW620/OxR	87.7 $\pm$ 11.1	40.0 $\pm$ 2.8**	122.7 $\pm$ 9.1*	30.9 $\pm$ 2.1**

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  significantly different from control cells  
(Dunnett's test) (n=3)

次に、EMT 関連因子に及ぼす各種 DNMT 阻害薬の影響について検討した。その結果、SW480 細胞では DAC、AC または Zeb 処置により E-cadherin のタンパク質の発現量は変化しなかった。また、各処置の有無に関わらず、vimentin のタンパク質発現量は検出限界以下だった。一方、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、DAC 処置により E-cadherin のタンパク質発現量の増加を認めたが、Zeb 処置により E-cadherin 及び vimentin のタンパク質発現量が低下した。また、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞では、DAC 処置及び AC 処置により vimentin のタンパク質発現量は変化しなかった。さらに、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、DAC または AC 処置により miR-200c 及び miR-141 の発現量は増加し、SW620/OxR 細胞においては、Zeb 処置により miR-200c のみ発現量が增大した。

さらに、細胞内 let-7 ファミリー発現量に及ぼす Zeb 処置の影響について検討した。その結果、SW480 細胞では let-7 ファミリーの発現量は、Zeb 処置により、変化しなかった。一方、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞においては、細胞内 let-7b の発現量は、Zeb 処置により、有意に増加した (図 7A)。また、exosome 中の let-7 ファミリーの発現レベルについて検討したところ、SW620 細胞において、exosome 中の let-7b 及び let-7g の発現レベルが、Zeb 処置により有意に減少した (図 7B)。一方、SW480 細胞及び SW620/OxR 細胞では、SW620 細胞と比較して Zeb 処置の有無に関わらず、exosome 中の let-7 ファミリーの発現レベルは著しく低値を示した (図 7B)。

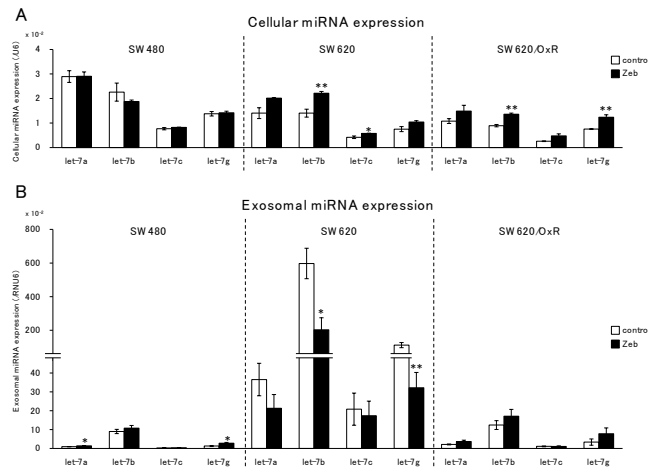


図7 細胞内及び exosome 中の let-7 ファミリー発現レベルに及ぼす Zeb の影響

A: 細胞内の let-7 ファミリーの発現レベルの比較  
 B: exosome 中の let-7 ファミリーの発現レベルの比較  
 \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  (Unpaired Student's *t*-test) (n=3)

以上の結果から、SW620 細胞及び SW620/OxR 細胞において、Zeb 処置により細胞内の let-7b の発現量が増加し、浸潤能が抑制された。さらに、exosome 中の let-7b の発現レベルが Zeb 処置による浸潤能抑制も反映するがん細胞の浸潤能の指標となる可能性を示した。しかし、SW620 細胞において、L-OHP 抵抗性獲得により、let-7 ファミリーの exosome を介した細胞外への移行が低下することが示唆された。exosome 中の let-7b 発現レベルと浸潤能との関連性について、SW620 細胞以外のヒト大腸がん細胞を用いて L-OHP 抵抗性大腸がん細胞を作製し、さらなる解析が必要と考えられた。

## 総括

本研究において、ヒト大腸がん細胞株 SW620 細胞が L-OHP 抵抗性を獲得する過程で、miR-200c 及び miR-141 の発現抑制と共に EMT が誘導され、浸潤能が亢進することを認めた。そして、L-OHP に対する抵抗性を獲得した大腸がん細胞の浸潤が、DNMT 阻害薬である DAC 及び Zeb により抑制される可能性を示した。さらに、DAC による exosome 中の miR-200c 及び miR-141 の発現レベルの増加や、Zeb による exosome 中の let-7b の発現レベルの低下が浸潤能の抑制を表す指標となる可能性が示唆された。

これらの本研究による成果は、大腸がんの遠隔転移を抑制し、治療成績を向上させる DNMT 阻害薬を用いた L-OHP 抵抗性を示す大腸がんに対する新たながん化学療法の開発に有用な資料になるものと考えられた。

## 文献

- 1) Baba H *et al.*, *Surg. Today*, **41**, 1610-1616 (2011).
- 2) 大腸癌研究会編, 大腸癌治療ガイドライン 医師用 2014 年版, 2014 年 1 月.
- 3) 全国がん (成人病) センター協議会の生存率共同調査, 2014 年 9 月.
- 4) Yang AD *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, **12**, 4147-4153 (2006).
- 5) Park SM *et al.*, *Genes Dev.*, **22**, 894-907 (2008).
- 6) Gregory PA *et al.*, *Nat. Cell Biol.*, **10**, 593-601(2008).

- 7) Korpál M *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **283**, 14910-14914 (2008).
- 8) Hu X *et al.*, *Mol. Cancer Res.*, **11**, 240-250 (2013).
- 9) Davalos V *et al.*, *Oncogene*, **31**, 2062-2074 (2012).
- 10) Vrba L *et al.*, *PLoS One*, **5**, e8697 (2010).
- 11) Chik F *et al.*, *Carcinogenesis*, **32**, 224-232 (2011).
- 12) Ari F *et al.*, *Cell Biochem. Funct.*, **29**, 651-659 (2011).
- 13) Kobayashi M *et al.*, *J. Transl. Med.*, **12**, 4 (2014).
- 14) Flotho C *et al.*, *Leukemia*, **23**, 1019-1028 (2009).
- 15) Wong TS *et al.*, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **137**, 415-422 (2011).

## 論文審査の結果の要旨

日本での遠隔転移を認める大腸がん患者の5年生存率は、未だ20%以下と著しく低く、大腸がんの遠隔転移を抑制するがん化学療法を開発することは、治療成績向上のための重要な課題である。オキサリプラチンは大腸がん治療の中心的な抗悪性腫瘍薬の一つであり、遠隔転移を認める大腸がん患者にも繰り返し投与される。しかし、オキサリプラチンの投与回数を重ねることに伴って、残存するがん細胞がオキサリプラチンに対して抵抗性を獲得した場合、再発や転移に繋がる。

著者は、ヒト大腸がん細胞株 SW620 細胞にオキサリプラチンを長期処置することでオキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞を作製した。そして、同一患者の原発巣由来の大腸がん細胞株 SW480 細胞および SW620 細胞とオキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞を用いて細胞の浸潤能や浸潤に関連するマイクロ RNA 発現レベルを比較するとともに、DNA メチル化阻害薬の浸潤能やマイクロ RNA 発現レベルに及ぼす影響を比較検討した。オキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞では、浸潤に関連するマイクロ RNA の miR-200c 及び miR-141 の発現低下と共に上皮間葉転換が誘導され、浸潤能も SW620 細胞に比べ亢進することを明らかにした。また DNA メチル化阻害薬のデシタビン及びゼブラリンの処置でオキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞の浸潤能が低下することも明らかにした。一方、SW480 細胞の浸潤能は SW620 細胞やオキサリプラチン抵抗性 SW620 細胞より低いことを認めている。miR-200c の細胞内発現レベルや転移を抑制するマイクロ RNA である let-7b の exosome 中の発現レベルが、ゼブラリンによる浸潤能抑制に伴って変化することも認め、がん細胞の浸潤能を表す指標となる可能性が示唆された。本研究の成果はオキサリプラチンに抵抗性を獲得した大腸がんの遠隔転移を抑制する新たながん化学療法開発のための有用な知見になるものと考えられる。

上記の論文は博士（薬学）論文として、適当と判定する。