

京都大学	博士（医学）	氏名	吉岡 正博
論文題目	Distinct effects of EGFR inhibitors on epithelial- and mesenchymal-like esophageal squamous cell carcinoma cells (上皮様および間葉様食道扁平上皮癌細胞に対する、EGFR 阻害剤の相異なる作用)		
(論文内容の要旨)			
<p>上皮成長因子受容体 (EGFR) は食道扁平上皮癌 (ESCC) の 59.6~76%で高発現し、予後不良因子でもあることから ESCC の病態生理に深く関与すると考えられるが、EGFR 阻害剤の ESCC に対する臨床効果は依然議論の余地がある。本研究は、ESCC 細胞に対する EGFR 阻害剤の治療効果を規定する因子を探索することを目的とする。</p> <p>本研究では不死化ヒト食道上皮細胞、形質転換したヒト食道上皮細胞 (T-Epi, T-Mes)、ESCC 細胞 (TE-1、TE-5、TE-8、TE-11、TE-11R、HCE4) に対し、EGFR 阻害剤であるチロシンキナーゼ阻害薬 (エルロチニブ) と抗 EGFR 抗体薬 (セツキシマブ) を <i>in vitro</i> で投与した。EGFR 阻害剤の細胞増殖抑制効果を細胞数計測と細胞周期アッセイで検討した。細胞の分化度を扁平上皮の分化マーカーであるインボルクリン (IVL) と CK13 の発現レベルで評価した。さらに上皮系および間葉系マーカーの発現レベルをそれぞれ E-カドヘリン、ビメンチンの発現レベルで評価した。各細胞は形態ならびに E-カドヘリン、ビメンチンの発現レベルから上皮様細胞と間葉様細胞に分類された。どちらの EGFR 阻害剤も上皮様細胞 (T-Epi, TE-1, TE-5, TE-11, TE-11R) に対し、S 期の細胞割合を低下させて細胞増殖を抑制するとともに、分化マーカーの発現レベルを上昇させ細胞分化を誘導した。一方これらの細胞増殖抑制効果、分化誘導効果はどの間葉様細胞 (T-Mes, TE-8, HCE4) でも見られなかった。EGFR 阻害剤は上皮様細胞で EGFR 脱リン酸化を誘導したが、間葉様細胞では誘導しなかった。EGFR 阻害剤が示した上皮様細胞に対する分化誘導効果はリコンビナント EGF の投与で抑制された。また上皮様、間葉様細胞にリコンビナント EGF を投与すると、上皮様細胞では EGFR のリン酸化が亢進したが間葉系細胞では亢進しなかった。これらの結果より EGFR 阻害剤の効果は上皮様食道細胞と間葉様食道細胞で異なるのではないかと考えた。</p> <p>そこで EGFR 阻害剤に対する感受性が細胞の表現型により異なるかを更に検討するために T-Epi (上皮様食道細胞) に TGF-β1 を添加し、間葉様の表現型 (紡錘形の形態、E-カドヘリン発現低下、ビメンチン発現亢進) を呈する細胞 (間葉様 T-Epi) を作成した。間葉様 T-Epi では EGFR 阻害剤による EGFR の脱リン酸化効果が低下し、細胞増殖抑制効果と分化誘導効果も抑制された。T-Epi と間葉様 T-Epi の遺伝子背景は同一であることから、細胞の表現型が EGFR 阻害剤の有効性を規定すると示唆された。</p> <p>最後に上皮様および間葉様 ESCC 細胞に対する EGFR 阻害剤の有効性を <i>in vivo</i> で検討した。ヌードマウス皮下に TE-11R (上皮様細胞)、TE-8 (間葉様細胞) を接種して腫瘍形成後にセツキシマブを腹腔内投与した。治療後の TE-11R 由来腫瘍は有意に腫瘍体積が減少し、免疫染色で IVL 蛋白の発現が確認できた。一方 TE-8 由来腫瘍は腫瘍増殖抑制効果が認められず IVL 発現にも影響がなかった。</p> <p>以上の結果より、EGFR 阻害剤が ESCC 細胞に治療効果を示すために必要な因子は、細胞が上皮様の表現型を呈することであることが示された。EGFR 阻害剤は上皮様食道細胞に対して分化誘導を伴い腫瘍増殖抑制効果を示すが、間葉様食道細胞に対しては無効であること、さらに EGFR 阻害剤が間葉様食道細胞に効果が乏しいのは EGFR の脱リン酸化が誘導されないためであることが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

食道扁平上皮癌 (ESCC) に対する化学療法の奏効率は低く予後改善には新たな治療戦略が必要である。EGFR 阻害剤は他臓器の扁平上皮癌 (SCC) で有効性が示されており、最近の皮膚 SCC に関する研究で EGFR 阻害剤の細胞分化誘導に伴う細胞増殖抑制効果が注目されている。一方、ESCC に対する EGFR 阻害剤の有効性は十分に解明されていない。申請者は、ESCC 細胞に対する EGFR 阻害剤の有効性と、その有効性を規定する因子を検討した。

不死化ヒト食道上皮細胞、形質転換したヒト食道上皮細胞、ESCC 細胞株に EGFR 阻害剤を投与し、細胞分化誘導効果、細胞増殖抑制効果、抗腫瘍効果を検討した。上皮様形態を呈する細胞に EGFR 阻害剤を投与すると、EGFR リン酸化が抑制され、細胞分化誘導効果、細胞増殖抑制効果が見られたのに対し、間葉様形態の細胞では EGFR 阻害剤による EGFR のリン酸化抑制効果が乏しく、細胞分化誘導効果、細胞増殖抑制効果は、上皮様食道細胞に対する効果と比較し有意に低かった。以上より ESCC 細胞における上皮様細胞には EGFR 阻害剤が有効であるのに対し、間葉様細胞には有効でないことが明らかとなった。上皮様食道細胞と間葉様食道細胞で EGFR 阻害剤に対する EGFR リン酸化抑制効果が異なることが EGFR 阻害剤に対する感受性の差異を生み出す機序となっていると考えられた。

以上の研究は ESCC 細胞に対する EGFR 阻害剤の有効性を規定する因子の解明に貢献し、食道扁平上皮癌に対する新たな治療戦略の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成29年12月12日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降