

京都大学	博士 (医学)	氏 名	玉置 将司
論文題目	Multiple roles of single-minded 2 in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical implications (食道扁平上皮癌における SIM2 の多様な機能と臨床的意義)		
(論文内容の要旨)			
<p>局所進行性食道扁平上皮癌(ESCC)に対する標準治療として、術前補助化学療法もしくは術前化学放射線療法および手術、または化学放射線療法 (CRT)が行われるが、局所再発やリンパ節転移、遠隔転移などのため 5 年生存率は 37%～55%と依然予後不良である。そのため、ESCC の進行や治療抵抗性についてのさらなる検討が必要とされている。ESCC、頭頸部癌、子宮頸癌などの扁平上皮癌において、分化度は重要な特徴のひとつであり、これらの扁平上皮癌は治療戦略においても多くの類似点を有する。一部の報告では、扁平上皮癌の分化度が治療感受性や予後と関連している可能性が示されている。しかし、術前補助化学療法/CRT 前の検体で使用された研究は限られており、分化度と補助化学療法/CRT 感受性との関係は十分に明らかにされていない。さらに扁平上皮癌における放射線治療と関連する因子はほとんど知られていない。一方、治療前生検検体を用いたマイクロアレイ解析から、予後良好であった上皮マーカーを高発現する症例において転写因子 single-minded 2 (SIM2)が高発現することが見出されていた。SIM2 は 21 番染色体の Down syndrome chromosomal region にあり、basic HLH (helix-loop-helix)-PER-ARNT-SIM (bHLH-PAS)ファミリーに属する。他の bHLH-PAS ファミリーである ARNT とヘテロ 2 量体を形成し、標的遺伝子の転写調節領域にある central midline elements へ結合し、転写を抑制する。SIM2 には 2 つのスプライシングバリエント、SIM2-long (SIM2) と SIM2-short (SIM2s)があり、様々な癌種でその異常発現が認められ上皮間葉移行や造腫瘍能などへの関与も報告されているが、癌種によって発現変動パターンや機能は異なる。本研究では、ESCC における SIM2 の発現とその臨床的意義を評価し、癌の分化や CRT 感受性における機能的役割を in vitro および in vivo の実験で精査した。まず、手術検体 60 例の癌部と非癌部における SIM2 の発現を比較したところ、90%の症例において癌部で SIM2 の発現が抑制されていた。一方で SIM2s は癌部、非癌部ともにほとんど発現しておらず、ESCC においては SIM2 がより重要な役割を担っていることが示唆された。また、CRT 施行 85 例において、治療前の生検 RNA を用いた定量的 RT-PCR で SIM2 の発現を調べた結果、93%の症例で癌部での SIM2 の発現が抑制されていた。また、重要なことに SIM2 の発現が比較的保たれている症例は予後良好であった。さらに SIM2 のプロモーター領域についてバイサルファイトシーケンスを行ったところ、SIM2 の発現が抑制されている症例において高度メチル化が認められた。次に、ESCC における SIM2 の機能的役割について検討した。ESCC 細胞株へ一過性に SIM2 を過剰発現させ、三次元培養を行ったところ、食道扁平上皮の分化マーカーである SPRR1A、FLG の発現が増加し、上皮間葉移行マーカーの VIM および基底細胞マーカーの PDPN が抑制された。SIM2 安定発現細胞株を作製したところ、PDPN 陽性癌基底細胞の割合が減少し、マウスへの皮下移植により形成された腫瘍は高分化型扁平上皮癌の組織像を呈した。さら</p>			

に、ESCC 細胞株を用いて ARNT をノックダウンしたところ、PDPN 陽性悪性基底細胞の割合は増加した。最後に、CRT 感受性における SIM2 の関与について検討した。SIM2 安定発現細胞株では DNA 修復遺伝子である FANCD2、BRCA1、XRCC5 や抗酸化酵素遺伝子である SOD2 の発現が抑制されており、CDDP および H₂O₂へ高い感受性を示した。さらに、SOD2 をノックダウンした細胞株では H₂O₂への感受性が高まることが確認された。

以上のことから、SIM2 は ARNT と協同して機能し、DNA 修復酵素および抗酸化酵素の発現を抑制することで、患者の CRT 感受性を改善するものと考えられた。また、SIM2 は CRT 感受性規定因子の 1 つであるのみならず、PDPN 陽性癌基底細胞の分化を誘導する因子であることも示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

局所進行性の食道扁平上皮癌(ESCC)に対する標準治療として術前補助化学療法と手術、または化学放射線療法 (CRT)が行われるが依然予後不良であり、ESCC の病態や治療抵抗性に関与する因子の解明は新たな治療戦略の確立に必要である。本申請者は CRT 前後の腫瘍検体のマイクロアレイ解析から、転写因子 single-minded 2 (SIM2)が CRT の感受性獲得に関与している可能性に着目し、ESCC における SIM2 の発現及びその臨床的意義、機能的役割を検討した。食道扁平上皮の癌部における SIM2 発現は非癌部と比較し低い傾向であったが、その中でも SIM2 発現が比較的保たれている例では CRT 施行後の予後が良好であった。ESCC 細胞株に SIM2 を過剰発現させると、扁平上皮の分化度を評価するマーカーの発現が増加し、一方、上皮間葉移行を促進する因子や、細胞の未分化度を評価するマーカー (PDPN) の発現が抑制された。SIM2 安定発現細胞株では PDPN 陽性となる未分化な細胞の割合が減少しマウス皮下移植腫瘍は高分化型扁平上皮癌の組織像を呈した。さらに SIM2 安定発現細胞株では DNA 修復酵素や抗酸化酵素の発現が抑制されており CDDP 及び H₂O₂ へ感受性を示した。以上から、SIM2 は扁平上皮細胞の分化を誘導し、DNA 修復酵素および抗酸化酵素の発現を抑制する因子であることが明らかとなり、SIM2 はこれらの作用により CRT 感受性に関与すると考えられた。

以上の研究は食道扁平上皮癌における SIM2 の機能および臨床的意義を明らかにし食道扁平上皮癌の治療抵抗性の解明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 30 年 8 月 1 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