

京都大学	博士 (医学)	氏名	西村 公男
論文題目	SIX1 maintains tumor basal cells via transforming growth factor -β pathway and associates with poor prognosis in esophageal cancer. (SIX1 は食道癌において TGF- β 経路を介して悪性基底細胞を維持し不良な予後と関連する)		
(論文内容の要旨) <p>【背景】 食道扁平上皮癌(ESCC)はもっとも予後不良な悪性腫瘍のひとつである。手術手技や化学療法の改善にもかかわらず根治切除しえた症例の 5 年生存率は約 55%であり、さらなる予後改善のため生物学的機序の解明が待たれる。ESCC の網羅的遺伝子発現解析を行い、上皮間葉転換(EMT)の多様性について報告してきた。転写因子 SIX homeobox 1(SIX1)は神経や筋肉の発生、分化に関わる遺伝子であるが、近年悪性腫瘍において EMT や癌幹細胞との関連が報告されている。今回、SIX1 が ESCC で異常発現し、EMT、予後不良、悪性基底細胞との関連が示唆されたので報告する。</p> <p>【方法】 8 種類の ESCC 細胞株で主に RT-PCR で遺伝子の発現を検討し、さらに浸潤能アッセイ、マウスへの移植を行った。手術材料、生検材料も RT-PCR、免疫染色で検討した。</p> <p>【結果】 まず RT-PCR により ESCC 細胞株、ESCC 手術検体の多くで SIX1 が過剰発現しているのに対し、正常食道上皮では発現がないことを確認した。ESCC 細胞株に SIX1 を過剰発現させると、RT-PCR にて間葉系マーカーの VIM、TGF-β 経路の遺伝子である TGFB1 などの発現上昇、上皮マーカーの CDH1 の発現低下がみられた。浸潤能アッセイで siRNA により SIX1 の発現を低下させた ESCC 細胞株では浸潤能低下がみられた。さらに SIX1 安定発現細胞株では、基底細胞マーカーの PDPN などが過剰発現していた。SIX1 安定発現細胞株は PDPN 陽性細胞が 60-70%であったのにたいして、mock 細胞株では 20%のままであった。浸潤能アッセイでも SIX1 安定発現細胞株は浸潤が増加していた。また SCID マウスへの移植実験も行い、腫瘍形成能の増大を認めた。TGF-β 受容体阻害剤で ESCC 細胞株を処理すると増殖が抑制され、PDPN 陽性細胞の減少がみられた。手術材料の免疫染色で SIX1 と PDPN の局在の一致を確認した。生検材料のマイクロアレイ、定量 RT-PCR により、SIX1 高発現症例は予後不良で、上記の基底細胞マーカーの発現上昇と、KRT4 などの分化マーカーの発現低下が認められた。</p> <p>【結論】 SIX1 は ESCC において転移性の高い悪性基底細胞の自己複製を促して予後を悪化させること、及び TGF-β 受容体阻害剤が有望な分子標的薬であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

食道扁平上皮癌(ESCC)は手術手技、化学療法、放射線治療の進歩にもかかわらず依然予後不良であり、ESCC の病態や予後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。本申請者はホメオボックス転写因子 SIX1 の高発現が予後不良因子である可能性に着目し、ESCC における SIX1 の発現及びその臨床的意義、機能的役割を検討した。正常食道上皮では SIX1 の発現はみとめなかった。手術検体で正常部では SIX1 の発現は低かったが、癌部では発現は亢進し、予後不良因子であった。ESCC 細胞株に SIX1 を過剰発現させると、扁平上皮表層のマーカーとなる遺伝子の発現が抑制される一方、PDPN に代表される扁平上皮基底層のマーカーとなる遺伝子の発現が促進され、浸潤能も亢進した。SIX1 強制発現細胞株のマウス皮下移植腫瘍でも PDPN 陽性を確認した。SIX1 強制発現株では TGF β 関連遺伝子の発現上昇、SMAD のリン酸化の亢進がみられたが、TGF β 阻害剤で処理すると SMAD のリン酸化が抑制された。また PDPN 陽性細胞の比率は減少し、表層マーカーの発現は上昇した。以上から、SIX1 は TGF β 経路を介して基底層マーカーの発現を維持することで、予後に関連する可能性があると考えられた。

以上の研究は食道扁平上皮癌の予後因子の解明に貢献し治療成績の向上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 11 月 5 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。

要旨公表可能日 年 月 日