

京都大学	博士 (医学)	氏名	中村武晴
論文題目	ELF3 suppresses gallbladder cancer development through downregulation of the EREG/EGFR/mTOR complex 1 signalling pathway (ELF3 は EREG/EGFR/mTOR complex 1 シグナル経路の抑制を介して胆嚢癌進展を抑制する)		
(論文内容の要旨) 胆嚢癌は予後不良な癌種の一つであり、予後改善および新規治療の開発のためには胆嚢癌進展における分子メカニズムをより深く理解することが重要である。ヒト胆嚢癌のゲノム解析の既報において E74-like ETS transcription factor 3 (ELF3) 遺伝子の機能欠失型変異が多く見られることが報告され、ELF3 は胆嚢癌の腫瘍抑制因子であると考えられている。しかし ELF3 が如何にして胆嚢癌進展を抑制するか、その分子メカニズムは明らかになっていない。今回その分子メカニズムを明らかにすべく以下の実験を行った。 まず初めにヒト胆嚢癌検体における ELF3 タンパク質の発現量と臨床的特徴との関連を評価したところ、ELF3 発現の低下した症例ではより深く浸潤しており、全生存期間も短い傾向にあることが明らかとなり、ELF3 が胆嚢癌の腫瘍抑制因子であるという既報に矛盾しない結果が得られた。 次にモデルマウスを用いた実験を行った。胆嚢腫瘍のモデルマウスとして <i>Pdx1-Cre; Kras^{G12D}; Trp53^{R172H}; Elf3^{w/wt}</i> (KPC)マウスを使用した。 <i>Elf3</i> をコンディショナルノックアウトした <i>Pdx1-Cre; Kras^{G12D}; Trp53^{R172H}; Elf3^{fl/fl}</i> (KPCE)マウスと KPC マウスを作製し、それぞれの胆嚢を組織学的に評価したところ、KPCE マウスではより異型度が高い乳頭状腫瘍が形成された。各々の乳頭状腫瘍からオルガノイドを作成し抽出した RNA を用いて RNA シークエンス解析を行ったところ、KPCE オルガノイドでは ERBB シグナル経路に関連する遺伝子群や上皮間葉転換の促進に関与する遺伝子群の発現が上昇しており、その中でも Eregulin (<i>Ereg</i>)の発現が KPCE オルガノイドにおいて大きく上昇していた。 <i>Elf3</i> を強制発現させて KPCE オルガノイドを用いた ChIP アッセイでは、 <i>Elf3</i> が <i>Ereg</i> の発現を直接制御していることが明らかになった。また KPCE オルガノイドを用いた Western blotting では EGF receptor (EGFR)/mTOR complex 1 (mTORC1)シグナルが亢進していることが明らかとなった。さらに、各々のオルガノイドを免疫不全マウスに移植したアログラフトマウスモデルを作成したところ、KPCE オルガノイド移植マウスではより低分化で mTORC1 シグナルが活性化した腫瘍が形成された。以上から、 <i>Elf3</i> は <i>Ereg</i> の発現制御を介して EGFR/mTORC1 シグナル活性を制御し胆嚢癌進展を抑制しているのではないかという仮説を立てた。この仮説を検証するため、KPCE オルガノイドにおいて <i>Ereg</i> をノックアウトしたところ、mTORC1 の下流因子のリン酸化が抑制され mTORC1 活性が低下することが明らかとなった。また <i>Ereg</i> をノックアウトした KPCE オルガノイドを移植したアログラフトマウスモデルでは、形成される腫瘍は有意に小さく、より高分化で mTORC1 シグナル活性の低下した腫瘍が形成され、 <i>Elf3</i> ノックアウトによる腫瘍促進効果が <i>Ereg</i> ノックアウトによって一部キャンセルされたことが示された。さらに KPCE オルガノイドに対し EGFR あるいは mTORC1 の阻害剤を投与すると、細胞増殖および上皮間葉転換が抑制された。 以上から、 <i>Elf3</i> は EREG/EGFR/mTORC1 シグナルの発現制御を介して胆嚢癌の進展を抑制していると考えられた。この結果は、ELF3 の発現が低下している胆嚢癌症例では EGFR あるいは mTORC1 の阻害が有効な治療となる可能性を示唆している。			

(論文審査の結果の要旨) 胆嚢癌の病態解明と新規治療の開発を目指し、本研究では E74-like ETS transcription factor 3 (<i>ELF3</i>)に着目した。 <i>ELF3</i> は胆嚢癌の約 20%に機能欠失型変異を認め、胆嚢癌の腫瘍抑制遺伝子と考えられている。本研究では胆嚢癌マウスモデルを用いて検討を行い、 <i>Elf3</i> をノックアウトすると粗大で異型の強い胆嚢腫瘍が形成されること、その腫瘍細胞をマウスに移植し長期観察すると上皮間葉転換 (EMT) が促進された低分化腫瘍が形成されることを示した。 <i>Elf3</i> をノックアウトした胆嚢腫瘍細胞では epidermal growth factor receptor (EGFR)/mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1) シグナルが活性化しており、そのメカニズムとして ELF3 が EGFR のリガンドである Eregulin (EREG)の mRNA 発現を直接制御していることを示した。また <i>Ereg</i> をノックアウトすることで EGFR/mTORC1 の活性が低下し腫瘍増殖・EMT が抑制されること、また EGFR あるいは mTORC1 の阻害によっても腫瘍増殖・EMT が抑制されることを示し、ELF3 は EREG/EGFR/mTORC1 シグナル経路を介して胆嚢癌の進展を抑制しており、 <i>ELF3</i> 変異を伴う胆嚢癌では EGFR/mTORC1 阻害が有効な治療となり得ることを明らかにした。 以上の研究は胆嚢癌の病態および胆嚢癌において ELF3 の果たす機能の解明に貢献し胆嚢癌に対する個別化治療の発展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、令和 6 年 2 月 7 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