

京都大学	博士（医学）	氏名	堀 佑太郎
論文題目	Ferroptosis-related Gene Glutathione Peroxidase 4 Promotes Reprogramming of Glucose Metabolism via Akt-mTOR Axis in Intrahepatic Cholangiocarcinoma (フェロトーシス関連遺伝子 Glutathione Peroxidase 4 は肝内胆管癌における糖代謝のリプログラミングを Akt-mTOR 経路を介して促進する)		
(論文内容の要旨) 背景と目的： <b>Glutathione Peroxidase 4(GPX4)</b> は新規細胞死フェロトーシスの律速酵素であり細胞内酸化ストレスの制御に関与している。近年、 <b>GPX4</b> の腫瘍学的な役割が解明され始め、いくつかの癌細胞株において <b>GPX4</b> を阻害することによる細胞増殖抑制効果が示され、新たな癌治療標的としての応用が期待されている。しかし肝内胆管癌における <b>GPX4</b> 発現の臨床的意義や腫瘍学的な視点からの分子メカニズムに関しては依然明らかにされていない。本研究では、肝内胆管癌切除患者における <b>GPX4</b> 発現と臨床病理学的因子や予後との関連を評価するとともに、細胞株を用いて腫瘍増殖に関連した病態生理学的役割を解明することを目的とした。  方法：臨床研究においては、2010～2017年に京都大学医学部附属病院で肝切除を施行し、病理診断にて肝内胆管癌と診断された57人を対象に、手術検体を用いた免疫染色により <b>GPX4</b> 発現を評価した。 <b>GPX4</b> 発現の cut-off 値は全生存率に対する最小 p 値法により決定し、臨床病理学的因子や生存成績との関連を解析した。基礎的実験においては肝内胆管癌細胞株 2 系統を使用した。 <b>GPX4</b> 阻害薬である <b>RSL3</b> を用いて、細胞増殖能や浸潤能を <i>in vitro/in vivo</i> で評価するとともに、糖代謝や Akt-mTOR axis に関連した解析を行った。  結果：手術検体による <b>GPX4</b> 発現評価の結果、 <b>GPX4</b> 高発現群 15 例、低発現群 42 例だった。 <b>GPX4</b> 高発現群では <b>FDG-PET</b> により測定される <b>SUVmax</b> 高値(8 以上、 $p=0.017$ )、多発腫瘍( $p=0.004$ )と有意な関連があり、免疫染色での <b>GLUT1</b> 高発現とも有意な関連がある傾向が見られた( $p=0.053$ )。生存成績は全生存率( $p=0.038$ )、無再発生存率( $p<0.001$ )ともに <b>GPX4</b> 高発現群で有意に予後不良であった。基礎的実験では、 <b>RSL3</b> により <b>GPX4</b> を阻害することで細胞増殖能、浸潤能の有意な低下がみられ、細胞株の皮下移植マウスモデルに対する <b>RSL3</b> 投与でも腫瘍形成能は有意に抑制された。また臨床研究より <b>GPX4</b> と糖代謝との間に関連が見られたことから、 <b>GLUT1</b> や <b>HIF1a</b> などの糖代謝関連マーカーを評価した。その結果、 <b>RSL3</b> により <b>GLUT1</b> や <b>HIF1a</b> 、ワールブルグ効果の律速酵素である <b>LDHA</b> 発現が減少するとともに、解糖系律速酵素である <b>PCK1</b> は発現が亢進した。さらに <b>GPX4</b> と糖代謝の関連を明らかにするため、Akt-mTOR axis に着目し評価した。 <b>RSL3</b> により <b>GPX4</b> 発現が減少するとともに、mTOR シグナル経路下流の <b>4EBP1</b> や <b>S6</b> のリン酸化が抑制された。一方、mTOR 阻害薬を投与しても <b>GPX4</b> 発現に影響はなかった。また <b>RSL3</b> と mTOR 活性化薬を同時投与したところ、 <b>RSL3</b> によって抑制される <b>4EBP1</b> や <b>S6</b> のリン酸化が著明に回復し、 <b>RSL3</b> で抑制される <b>GLUT1</b> の発現も mTOR 活性化薬によって回復した。  結論： <b>GPX4</b> は肝内胆管癌切除後の患者における重要な予後因子の 1 つであった。さらに <b>GPX4</b> は癌での糖代謝に Akt-mTOR axis 介して関与している可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

近年、フェロトーシスの律速酵素である glutathione peroxidase 4 (GPX4) の腫瘍学的な役割が基礎的実験により示され、その臨床的意義についても徐々に明らかとなってきた。しかし肝内胆管癌での **GPX4** 発現の臨床的意義や分子メカニズムに関する詳細な検討は限定的である。本研究は肝内胆管癌における **GPX4** 発現と臨床病理的特徴や予後との関連を評価し、その背景にある分子メカニズムについて基礎的実験により解明することを目的とした。まず手術検体の免疫染色により **GPX4** 発現を解析し、**GPX4** 高発現が切除後の予後因子であること、多発腫瘍や **SUVmax** 高値と関連があることを明らかにした。次に細胞株を用いて腫瘍進展への影響を評価した。**RSL3** により **GPX4** を阻害したところ細胞増殖能や遊走能が抑制され、糖代謝マーカーの mRNA、タンパク発現に変化が見られた。また **GPX4** による糖代謝制御について、**RSL3** によって Akt-mTOR 経路の活性化が抑制される一方、mTOR 活性化薬により **RSL3** で抑制される **GLUT1** タンパク発現が回復した。

以上の研究は、**GPX4** が肝内胆管癌での重要な予後予測因子であることを明らかにし、Akt-mTOR 経路を介して癌の糖代謝制御に関与する可能性を示唆するもので、今後の肝内胆管癌治療戦略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、本学位申請者は、令和 6 年 2 月 28 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