

論文内容の要旨

食道扁平上皮癌における Transmembrane Protease Serine 11B の発現制御に関する検討
(天野総, 岩谷岳, 秋山有史)

(Journal of Iwate Medical Association 69 巻 1 号 平成 29 年 4 月掲載)

I. 研究目的

予後不良の癌の一つである食道扁平上皮癌の患者の予後改善には早期診断法や新規治療法の開発が望まれるが、その治療標的やバイオマーカーの発見には食道癌発生の分子メカニズムの解明が重要と思われる。食道扁平上皮癌の 10%以上の症例で変異が認められる遺伝子は数遺伝子に限られるが、これらの変異は細胞機能に重要な Pathway 上の遺伝子に排他的に存在することが多く、発現状態からの重要遺伝子の検索は食道癌の発生・進展に関わる分子メカニズムをより直接的に同定できる可能性がある。

本研究は RNA sequence (RNA-seq) を用い食道癌組織の網羅的遺伝子発現解析を行い、新規癌抑制遺伝子の候補として膜結合型セリンプロテアーゼの 1 つである transmembrane protease serine 11B (TMPRSS11B) 遺伝子を同定したので報告する。

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学外科学講座で食道切除術を施行された占居部位、組織学的分化度、病理的進行度の異なる 3 例の食道扁平上皮癌の網羅的遺伝子発現解析を行い、食道正常粘膜に比し発現低下を認めた Transmembrane Protease Serine 11B (TMPRSS11B) を食道扁平上皮癌の癌抑制遺伝子の候補として検討した。食道癌切除検体 64 例 (1992-2007 年) と 10 株の食道扁平上皮癌細胞株の TMPRSS11B の遺伝子発現状態を quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR) を用い定量し各症例における癌組織での TMPRSS11B の発現量と臨床病理学的因子との関係性について検討した。また、癌組織と正常組織での TMPRSS11B の発現の変化を免疫組織染色で検証した。TMPRSS11B を過剰発現させた細胞株でのタンパク発現の変化について Western Blot を用いて検討した。TMPRSS11B の発現抑制のメカニズムについてメチル化の関与を 5-Aza/dC を用いたメチル化阻害実験で検討した。遺伝子発現状態の比較は t 検定, Mann-Whitney の U 検定を、臨床病理因子との関連解析は χ^2 検定, Fisher 正確検定により行った。生存解析は Kaplan-Meier 法にて行った。

III. 研究結果

1. 食道扁平上皮癌において正常組織に比して癌組織で最も発現差を示した遺伝子は CST1 であり, 癌組織に比して正常組織で最も発現差を示した遺伝子は TMPRSS11B であった.
2. TMPRSS11 subfamily に属する TMPRSS11A, TMPRSS11E, TMPRSS11BNL, TMPRSS11D, TMPRSS11F のいずれも食道癌組織での発現低下が見られた.
3. 64 症例の食道癌臨床検体における qRT-PCR 解析では, TMPRSS11B の発現は癌組織及び細胞株で正常組織に比し有意に低下していた. 癌組織では 87.5% の症例で低下しており ($p < 0.0001$), 細胞株ではすべての細胞株で低下を認めた ($p < 0.01$).
4. 食道癌組織の TMPRSS11B 発現状態と臨床病理学的因子との間に関連性はなかった.
5. 免疫組織染色では, 正常食道上皮では細胞膜に TMPRSS11B 発現がみられたが, 食道癌部では発現が認められなかった.
6. TMPRSS11B 強制発現株では control に比べリン酸化 EGFR (pEGFR) および下流の Akt, リン酸化 Akt (pAkt) の発現が減少した.
7. メチル化阻害では, いずれの細胞株でも TMPRSS11B の発現回復は見られなかった.

IV. 結 語

食道癌の RNA-seq による網羅的発現解析から TMPRSS11 subfamily の発現低下を見出した. TMPRSS11B の発現低下は約 90% の症例および全ての食道癌細胞株で見られ, その発現レベルと臨床病理学的因子との間に関連が見られないことから, 食道癌発生早期から生じる異常であることが示唆された. 発現制御メカニズムとしてメチル化以外の機序が示唆された. また, TMPRSS11B は EGFR/Akt pathway を抑制することで食道癌発生に関与する可能性が示唆された.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐藤 孝 (病理学講座：機能病態学分野)

副査 特任教授 木村 祐輔 (緩和医療学科)

副査 特任准教授 新田 浩幸 (外科学講座)

食道扁平上皮癌(食道癌)は早期よりリンパ節転移を生じ、進行癌では主要臓器へ浸潤しその予後は不良である。患者の予後改善には新たな早期診断法や癌発生の分子メカニズムに関わる新規分子標的治療薬の開発が望まれる。本研究論文では、*Transmembrane Protease Serine 11B (TMPRSS11B)* を食道癌の癌抑制遺伝子の候補として、食道癌切除検体 64 例 (1992-2007 年) と 10 株の食道癌培養細胞株を用いその遺伝子発現状態を quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR) を用い解析を行った。

その結果、すべての手術症例および細胞株において *TMPRSS11B* の発現が有意に低下していることを明らかにすると共に、*TMPRSS11B* が EGFR/Akt pathway を抑制することで食道癌発生に関与する可能性を示した。

本論文の研究成果は、食道癌早期発見の新たなバイオマーカーや分子標的治療薬開発に役立つ有益な知見を提供した研究論文である。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

食道癌の臨床病態、*TMPRSS11B* の機能および食道癌早期発見や治療への応用、並びに分子生物学的手法について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識と研究者としての指導能力を認めた。また、学位論文の作成にあたり、剽窃・盗作等の研究不整は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Downregulation of *ST6GALNAC1* is associated with esophageal squamous cell carcinoma development (*ST6GALNAC1* の発現低下が食道扁平上皮癌の進展に関与する) (岩谷岳, 他 16 名と共著)
International Journal of Oncology, Doi:10. 3892/Ijo. 2016. 3817
- 2) 中年男性に発生した Solid-pseudopapillary neoplasm の 1 例 (天野総, 他 7 名と共著)
八戸日赤紀要, 11 巻, 1 号 (2014) : p11-16.