

論文審査の結果の要旨

Downregulation of protein disulfide-isomerase A3 expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis through STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma

肝細胞癌において Protein disulfide-isomerase A3 の発現抑制は
STAT3 シグナルを介して細胞増殖を抑制しアポトーシスを誘導する

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野

大学院生 近藤 亮太

International Journal of Oncology 掲載予定 (2019 年)

肝細胞癌は炎症を背景に進展し、炎症性シグナルである signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) 経路がその進展に寄与する。肝細胞癌は、予後の悪い癌で新たな治療法が模索されている。Protein disulfide-isomerase A3 (PDIA3) は、新規合成蛋白やミスフォールディング蛋白を管理するシャペロン蛋白で、小胞体の恒常性維持に関わる一方、様々な機能があると報告されている。近年、肝細胞癌の予後不良因子として PDIA3 の高発現が報告されており、肝細胞癌における PDIA3 の機能が注目されるが、その解明には至っていない。本研究では、肝細胞癌における PDIA3 の役割、PDIA3 と STAT3 シグナル経路との関係性に着目し検討した。

切除された 53 例の肝細胞癌の組織標本で PDIA3 の免疫染色を行い、発現が高い 29 例と低い 24 例に分け、臨床病理学的因子、Ki-67 index による細胞増殖能、Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) 法によるアポトーシスとの関連を検討した。PDIA3 発現と腫瘍径、脈管侵襲、組織型などの病理組織学的因子との関連はなかった。一方で、PDIA3 発現が高い肝細胞癌では、Ki-67 Index が高く、アポトーシス細胞が少なかった。ヒト肝癌細胞株 HuH-7 と huH-1 を用いた細胞実験では、small interfering RNA による PDIA3 の発現抑制は、細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。これにより PDIA3 と細胞増殖、アポトーシスの関連性が示され、その機序について解析を進めた。

PDIA3 の発現抑制が小胞体ストレスによるアポトーシスを誘導している可能性を考え、小胞体ストレスマーカーである 78 kDa glucose-regulated protein (GRP78) の発現を観察した。PDIA3 の発現抑制により、GRP78 の発現は増加せず、小胞体ストレスは誘導されていなかった。次に、PDIA3 と STAT3 の関連を検討した。肝癌細胞株で、PDIA3 と STAT3 の細胞内の局在の一致と複合体形成が認められた。また、PDIA3 の発現抑制は、リン酸化 STAT3 (Tyr 705; P-STAT3) を抑制し、STAT3 シグナル下流の抗アポトーシス蛋白 (Bcl-XL, Mcl-1, survivin, XIAP) の発現を抑制した。さらに、PDIA3 が STAT3 シグナルを介しているか、STAT3 シグナル阻害剤の AG490 を用いて細胞増殖を検討した。AG490 は、肝細胞癌株の

増殖能を抑制した一方で、AG490 投与下で PDIA3 発現抑制は相乗効果を示さなかった。このことは、PDIA3 の発現抑制による細胞増殖抑制が、STAT3 シグナルを介していることを示唆する。最後に 35 例の組織検体を用いて、PDIA3 と P-STAT3 の関連について検討した。P-STAT3 陽性のものは、PDIA3 発現が高く、P-STAT3 陰性のものでは、PDIA3 発現が低かった ($P < 0.001$)。

本研究は、PDIA3 が細胞増殖とアポトーシスを制御していることを示し、さらにそのメカニズムとして、PDIA3 が STAT3 経路を介して抗アポトーシス蛋白の発現を制御していることを明らかにした。