

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Molecular biological role of epithelial splicing regulatory protein 1
in intrahepatic cholangiocarcinoma

肝内胆管癌における ESRP1 の分子生物学的役割

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 春名孝洋

Hepatology research. 2024 Jul 22.掲載予定

DOI: 10.1111/hepr.14096. Online ahead of print

肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma; iCCA)は典型的な症状に乏しいため早期発見が難しく、手術切除以外に有効な治療法が確立されていない非常に予後不良な疾患である。また、上皮間葉転換(epithelial-mesenchymal transition; EMT)は腫瘍細胞の進行や転移を引き起こすプログラムとして知られている。本研究では、RNA 結合タンパクの1つである ESRP1 と EMT に影響を及ぼす ZEB1, CD44 isoforms に注目し、iCCA において EMT を介した再発・転移に影響を及ぼす分子生物学的病態の解明を目指す。

肝内胆管癌の細胞株(HuCC1, KKK100, SSP-25)を用いて、ESRP1 と ZEB1 の siRNA により発現抑制を行い、それぞれのタンパク発現や EMT マーカーの変化、腫瘍の性質の変化を測定した。同様な実験を3次元培養も用いて検討を行った。さらに、手術切除された iCCA の患者 57 名の腫瘍標本を用いて ESRP1 と ZEB1 の免疫染色を行い臨床病理学的検討、術後無再発生存期間に関して検討を行った。最後に、ESRP1 に関連のある分子生物学的メカニズムの更なる解明のため、ESRP1 の発現をコントロールし、変化を認めるタンパクの網羅的解析を行った。

ESRP1 抑制群では遊走能、浸潤能が亢進し、ZEB1 抑制群では遊走能、浸潤能が低下した。EMT マーカーや CD44 isoforms の発現においては、ESRP1 抑制群において上皮系マーカーが低下、間葉系マーカーが上昇、CD44s が亢進し、ZEB1 抑制群においては反対の変化を認めた。3次元培養でも同様の結果であった。また、高分化型～中分化型腺癌では低分化型腺癌と比較し有意に ESRP1 発現が高値、ZEB1 発現が低値、低分化型腺癌で高分化型～中分化型腺癌と比較し有意に ESRP1 発現が低値、ZEB1 発現が高値であった。術後無再発生存期間に関しては、ESRP1/ZEB1 比が低値の群は有意に術後再発を認めた。網羅的解析では、ESRP1 抑制群に共通して発現上昇したタンパクを 24 種類認め、その中で関連のあるタンパクとして細胞接着に影響を及ぼす flotillin 2 に注目した。ESRP1 抑制群において flotillin 2 は上昇し、ZEB1 抑制群において flotillin 2 は低下することを確認した。

本研究により、ESRP1 低発現、ZEB1 高発現の腫瘍細胞は間葉系の性質を獲得し、CD44s の発現を亢進させることで細胞接着能を低下させ、細胞の遊走能、浸潤能を亢進させることがわかった。そのため、ESRP1/ZEB1 比が低値の腫瘍は有意に再発、転移を認めた。また、iCCA においても ZEB1-ESRP1-CD44 isoforms の feedback loop の存在を証明し、flotillin 2 も含めた新たな feedback loop が存在し得ると考えられた。これにより、ESRP1 を中心としたこれらのタンパクは iCCA の治療戦略の新たなターゲットとして提案され、そのメカニズムをさらに探求することが期待される。

二次審査においては、CD44s が ZEB1 の発現亢進を引き起こすメカニズムや flotillin 2 が EMT に及ぼす影響、病理学的評価の検討事項、今後の研究の展望に関する質問等があったが、いずれの質問に対しても簡潔明瞭的確に回答された。今後は flotillin 2 の機能の解明やリキッドバイオプシーのような臨床への応用を目指して研究に取り組むとの事であった。本研究は、まだ研究成果の乏しい肝内胆管癌の転移メカニズムを示した重要な研究であることが確認された。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。