



Title	Downregulation of SIRT4 Expression is Associated with Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma
Author(s)	中原, 裕次郎
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59554
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	中原 裕次郎
論文題名 Title	Downregulation of SIRT4 Expression is Associated with Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma (食道扁平上皮癌においてSIRT4の発現低下は予後不良因子となる)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 食道扁平上皮癌は予後不良な癌の1つであり、手術、化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的治療の進歩にもかかわらず、未だに十分な治療成績は得られていない。現在、食道扁平上皮癌は臨床病理学的に進行度を分類し、治療法を決定している。しかし、癌細胞には多様な生物学的特性があり、臨床病理学的進行度のみでは正確な予後の層別化はできていない。よって正確な予後予測や適切な治療法の個別化には、新たなバイオマーカーの探索が重要である。一方、癌細胞では正常細胞とは異なり、グルタミンを分解しグルタミン酸を経てα-ケトグルタル酸を合成する代謝経路が亢進していることが知られている。この癌細胞に特異的なグルタミン代謝経路はグルタミノリシスと呼ばれ、グルタミンは癌細胞の成長・増殖において重要である。SIRT4は、GDH (グルタミン酸からα-ケトグルタル酸への合成を触媒する酵素; glutamate dehydrogenase)の活性を低下させる作用があり、癌細胞においてはグルタミン依存性の細胞増殖を抑制する。よってSIRT4は腫瘍抑制効果があると考えられ、いくつかの癌腫ではSIRT4の発現は予後に関連していると報告されている。本研究の目的は、食道扁平上皮癌におけるSIRT4の予後予測マーカーとしての意義を解明することである。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ①多施設で根治切除された食道扁平上皮癌症例79例に対してqRT-PCR法 (quantitative reverse transcription PCR)を行い、癌組織におけるSIRT4 mRNA発現と予後との関連を解析した。SIRT4 mRNAの中央値で高発現群40例、低発現群39例に分類した。SIRT4発現と臨床病理学的因子には関連を認めなかった。一方で、全生存期間解析ではSIRT4低発現群が有意に予後不良であった (5年生存率 高発現群65.8% vs 低発現群31.9%; $P=0.016$) ②上記とは独立した、当科で根治切除された食道扁平上皮癌症例93例に対して免疫組織化学染色法を行いSIRT4タンパク発現と予後との関連を解析した。免疫染色では癌細胞の細胞質が均一に染色されており、染色強度により陽性群と陰性群に分類したところ、陽性群27例 (29.0%)、陰性群66例 (71.0%)であった。SIRT4発現と臨床病理学的因子には有意な関連を認めなかったが、全生存期間解析では陰性群が有意に予後不良であった (5年生存率 陽性群65.8% vs 陰性群36.1%; $P=0.011$)。また、無再発生存期間解析でもSIRT4陰性群は陽性群よりも予後不良であった ($P=0.026$)。全生存期間に対する多変量解析において、深達度 (hazrd ratio[HR]:2.04、95% confidence interval[CI]:1.01-4.52、$P=0.045$)、リンパ節転移 (HR:2.91、95% CI:1.09-10.11、$P=0.031$)とともに、SIRT4発現陰性は独立した予後不良因子であった (HR:2.06、95% CI:1.04-4.58、$P=0.038$)。術後再発に関しては、陰性群で有意に再発症例が多く (陽性群25.9% vs 陰性群60.6%、$P=0.0024$)、再発形式では遠隔再発が陰性群で有意に多かった (陽性群7.4% vs 陰性群39.4%、$P=0.0023$)。 ③食道扁平上皮癌細胞株を用いてSIRT4の生物学的機能を検討した。細胞株6種類 (TE4、TE8、TE9、TE11、KYSE170、KYSE510)を用いて、qRT-PCR法にてSIRT4 mRNAを測定した結果、TE8、KYSE170でSIRT4の発現が高値であった。この2株に対してsiRNA (small interfering RNA)を導入しSIRT4の発現を抑制した。GDH activity assayでは、SIRT4 siRNAを導入した細胞ではnegative controlを導入した細胞と比較してGDH活性の上昇を認めた (TE8:1.4倍、KYSE170:1.3倍、共に$P<0.05$)。WST-8 assayによる細胞増殖能の検討では、SIRT4 siRNAを導入した細胞ではnegative controlを導入した細胞と比較して細胞増殖能の上昇を認めた (導入後72時間でTE8:1.4倍、KYSE170:1.3倍、共に$P<0.01$)。Wound scratch assayによる細胞遊走能の検討でも、SIRT4の発現抑制による細胞遊走能の上昇を認めた (scratch後18時間での創閉鎖率の比較でTE8:2.1倍、KYSE170:2.9倍、共に$P<0.01$)。 〔総括(Conclusion)〕 2つの独立した症例群において、SIRT4の発現低下は臨床病理学的因子との関連は認めないが予後不良と相関しており、SIRT4は食道扁平上皮癌に対する新規予後マーカーとして有用であると考えられた。SIRT4発現による分類により、術後の予後をより正確に層別化することが可能になり、術後治療の適応や術後サーベイランスの指標の一つとなりうる事が期待できる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中原 裕次郎		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査	大阪大学教授 奥村 明之進
論文審査の結果の要旨		
本論文は、グルタミン代謝経路を抑制する働きがあるSIRT4が、食道扁平上皮癌において予後予測マーカーとなるかを検討している。 本研究では、独立した2種類の食道扁平上皮癌症例のサンプルセットを用いている。一方ではqRT-PCR法を、もう一方では免疫組織化学染色法を用いて、両方の解析においてSIRT4の発現低下は予後不良因子となることを示した。また、免疫組織化学染色法による解析群においては、SIRT4陰性群において遠隔再発が有意に多い結果となった。食道扁平上皮癌細胞株を用いたSIRT4の生物学的機能の検討においては、SIRT4の発現抑制によって細胞増殖能、遊走能が上昇することを示した。 本研究によって、SIRT4は食道扁平上皮癌における新規予後マーカーとして有用であると考えられる。これまでに食道扁平上皮癌におけるSIRT4の意義に関しては報告がなく、SIRT4は術後のサーベイランスの指標となりうることから、本論文は学位に値するものと認める。		