

Title	Clinical Significance of FANCD2 Gene Expression and its Association with Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma
Author(s)	小松, 久晃
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69266
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		小松 久晃	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	森 正 樹
	副 査	大阪大学教授	竹 原 徹 中
	副 査	大阪大学教授	奥 山 宏 隆
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p><i>Fanconi anemia complementation group D2 (FANCD2)</i> 遺伝子は癌組織を含めた生体内で重要な意義を持つDNA損傷修復に深く関与することが知られているが、肝細胞癌においてその発現の臨床的意義や腫瘍進展との関連は明らかでなかった。</p> <p>本研究では肝細胞癌切除検体における <i>FANCD2</i> の発現および臨床情報を解析し、癌組織において <i>FANCD2</i> が高発現であった患者群は低発現であった患者群に比して有意に腫瘍の進行度が高く、全生存率が低値であることを示した。また、肝癌細胞株において <i>FANCD2</i> によりコードされる FANCD2 タンパク質の発現を抑制すると有意に増殖能および浸潤能が低下することを示すとともに、既存の薬剤を用いて mTOR シグナル経路を抑制すると <i>FANCD2</i> の発現が低下することも証明した。</p> <p>これらの結果は、肝細胞癌症例において <i>FANCD2</i> の発現が予後予測のためのバイオマーカーとして有用であり、<i>FANCD2</i> が新たな治療標的となり得る可能性を示している。以上より、本研究は博士（医学）の学位授与に値するものと認める。</p>			

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	小松 久晃
論文題名 Title	Clinical Significance of <i>FANCD2</i> Gene Expression and its Association with Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma (肝細胞癌における <i>FANCD2</i> 遺伝子発現の臨床的意義と腫瘍進展との関連)
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>肝細胞癌は、根治治療が難しい予後不良な癌種の一つである。肝細胞癌の治療成績向上には、腫瘍進展に関与する分子を同定し予後予測可能な新規バイオマーカーを確立することが必要である。Fanconi anemiaファミリー遺伝子の一つである<i>Fanconi anemia complementation group D2 (FANCD2)</i> 遺伝子は、生体内においてDNAの損傷に対する修復反応に重要な役割を果たすFANCD2タンパク質をコードしている。<i>FANCD2</i>は腫瘍抑制的な働きを有し、その機能不全はゲノム不安定性を惹起し発癌リスクを高めることが知られているが、近年、<i>FANCD2</i>の発現がいくつかの癌種において悪性度と関連することが報告されている。本研究では、肝細胞癌における<i>FANCD2</i>遺伝子発現の臨床的意義と腫瘍進展との関連について明らかにすることを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>九州大学病院別府病院外科およびその関連協力施設で2000年から2004年に肝細胞癌に対して根治的な肝切除を施行された111症例について、癌部および非癌部肝組織における<i>FANCD2</i> mRNAの発現を定量的リアルタイムPCR法により測定した。また、一般公開されているThe Cancer Genome Atlas (TCGA)データセットにおける肝細胞癌370例のmRNA発現データおよび臨床情報を入手し、<i>FANCD2</i>発現について解析した。<i>FANCD2</i>はいずれのコホートにおいても非癌部肝組織よりも癌部において有意に発現が亢進していた。TCGAデータセットの364例において<i>FANCD2</i>の遺伝子コピー数についての情報を解析した結果、<i>FANCD2</i>発現量は<i>FANCD2</i>のコピー数と有意な相関 (Spearman's rank-correlation coefficient=0.385、$p<0.001$) を有し、またうち77例 (21.2%)においてコピー数の増加を認めた。各コホートにおいてMinimum p-value approachを用いて<i>FANCD2</i>発現と予後との関連について検討したところ、いずれのコホートにおいても<i>FANCD2</i>の高発現群の全生存率が有意に不良であることが示された。自験例における<i>FANCD2</i>発現と臨床病理学的因子との比較では<i>FANCD2</i>高発現群は有意に腫瘍径が大きく、門脈浸潤を伴う頻度が高かった。</p> <p>次に、予め定義付けされた遺伝子セットと<i>FANCD2</i>発現との相関について、TCGAのデータセットを用いてGene set enrichment analysis (GSEA)を行ったところ、<i>FANCD2</i>発現は肝細胞癌の予後不良と関連する遺伝子群、高増殖能と関連する遺伝子群、細胞周期に関連する遺伝子群と有意な相関を認めた。</p> <p>最後に、肝癌細胞株 (HepG2、PLC/PRF/5)を用いて<i>FANCD2</i>の働きを検証するために、siRNAを用いて<i>FANCD2</i>の発現をノックダウンし、増殖能、浸潤能についてMTT法および細胞浸潤チェンバーを用いて検討した。<i>FANCD2</i>発現抑制によりHepG2およびPLC/PRF/5では有意に増殖能が低下し、HepG2においては浸潤能も低下した。さらに、<i>FANCD2</i>発現は他癌種においてmTOR (mechanistic target of rapamycin)シグナル経路の影響を受けることが知られているが、今回の検討においてもGSEAによりmTORシグナル経路の活性と関連する遺伝子セットと有意な相関を認めた。HepG2、PLC/PRF/5において<i>mTOR</i>のノックダウンを行うと<i>FANCD2</i>の発現が抑制された。同様に、mTORシグナル経路のキナーゼ阻害剤であるAZD8055を添加すると<i>FANCD2</i>の発現が抑制され、その後AZD8055を培地より除去すると<i>FANCD2</i>の再発現が認められた。これらの結果より、肝細胞癌における<i>FANCD2</i>発現にはmTORシグナル経路が関与していると考えられた。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>肝細胞癌における<i>FANCD2</i>遺伝子発現は、腫瘍の増殖能、浸潤能と関連し予後を予測する有用なバイオマーカーであり、<i>FANCD2</i>は肝細胞癌に対する治療標的の一つとなる可能性が示唆された。</p>	