OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Targeting the mevalonate pathway is a novel therapeutic approach to inhibit oncogenic FoxM1 transcription factor in human hepatocellular carcinoma
Author(s)	小倉, 智志
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70684
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　小倉　智志

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	竹原徹郎 印
副　査	大阪大学教授	菊池章
副　査	大阪大学教授	下村伊一郎 印

論文審査の結果の要旨

近年、肥満や糖尿病など生活習慣病に起因する非ウイルス性肝癌が増加し、代謝異常と肝癌の関係が注目されている。一方、Forkhead Box M1 (FoxM1)は、肝癌で高発現する転写因子であり、その発現が肝癌患者の予後を規定することも報告され、肝癌に対する新規治療標的として期待されている。本論文は、肝癌における脂質代謝異常とFoxM1の関係性について、ヒト肝癌細胞株及び臨床検体を用いて、詳細に検討したものである。脂質異常症治療薬スタチンは、コレステロール合成の主要経路であるメバロン酸経路の阻害剤であるが、スタチン添加はヒト肝癌細胞株のFoxM1発現を有意に抑制し細胞死を誘導した。スタチン以外のメバロン酸経路阻害剤や同経路の代謝産物を用いた検討により、メバロン酸経路によるFoxM1発現制御には、タンパクゲラニルゲラニル化の経路が重要であることが明らかとなった。さらに、ヒト肝癌の手術検体を用いた検討により、FoxM1とメバロン酸経路関連タンパクが共に高発現している群がそれ以外の群に比し有意に予後不良であること示した。これらの研究成果は、肝癌脂質代謝によるFoxM1発現制御を明確に示したものである。同時に、肝癌治療においてスタチンが新規FoxM1抑制剤になり得る可能性も示した優れた論文であり、学位に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	小倉　智志
論文題名 Title	Targeting the mevalonate pathway is a novel therapeutic approach to inhibit oncogenic FoxM1 transcription factor in human hepatocellular carcinoma （ヒト肝癌において、メバロン酸経路は癌関連タンパクFoxM1転写因子を抑制するための新規治療標的となり得る）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

近年、肝細胞癌（肝癌）において、解糖系や脂質代謝系の癌代謝異常の存在が注目されている。中でも、脂質代謝経路の一つメバロン酸経路の律速酵素であるHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害剤スタチンの肝癌に対する抗腫瘍効果が報告されているが、その制御機構については不明な点が多い。一方、Forkhead Box M1(FoxM1)転写因子は、肝癌をはじめとした様々な癌で過剰発現する癌関連タンパクである。さらに、肝癌におけるFoxM1過剰発現が、患者の術後予後を規定し得ることも報告されている。しかしながら、FoxM1の肝癌における発現制御機構や癌代謝への関与については不明である。そこで、今回、肝癌脂質代謝メバロン酸経路におけるFoxM1の関与を明らかにし、メバロン酸経路阻害によるFoxM1発現抑制の可能性について検討することを研究の目的とした。

〔方　法(Methods)〕

1）スタチン及び脂質代謝メバロン酸経路阻害剤及び代謝産物のFoxM1発現に与える影響及びその分子機構について、ヒト肝癌細胞株（HepG2、Huh7、HLF）を用いて検討した。2）2001年5月から2011年11月に当院消化器外科で肝癌に対して肝切除術を施行された症例のうち、術前に切除病変に対して肝動脈（化学）塞栓術を施行されていない64症例を対象とし、肝切除検体の腫瘍部における遺伝子発現量の検討を行った。タンパク発現はWestern Blot法ならびに蛍光免疫染色法を用い、遺伝子発現は定量的リアルタイムPCR法を用いて、それぞれ解析した。

〔成　績(Results)〕

1）ヒト肝癌細胞株において、スタチン添加はFoxM1のタンパク発現を有意に抑制し、細胞死を亢進させた。また、スタチンはFoxM1の核局在を減少させ、CCNB1やBIRC5といった標的遺伝子の発現を有意に抑制させた。スタチンによるFoxM1発現抑制はメバロン酸添加により回避され、HMGCR発現抑制によりFoxM1発現が抑制されたことから、FoxM1がメバロン酸経路の下流に位置していることが示唆された。次に、メバロン酸経路の酵素阻害剤や代謝産物を用いて、FoxM1の発現制御に関わるメバロン酸経路の因子について検討した。この結果、ゲラニルゲラニル基転移酵素阻害剤がFoxM1の発現を抑制させ、ゲラニルゲラニルピロリン酸のみがスタチンによるFoxM1発現抑制を回避させた。ゲラニルゲラニル化タンパクであるRhoファミリー分子であるRhoA、Rac1、Cdc42を抑制することによりFoxM1の発現が抑制された。以上より、FoxM1の発現制御にゲラニルゲラニル化の経路が関与しており、さらにRhoファミリー分子が関与している可能性が示唆された。

2）ヒト肝癌臨床検体を用いて、FoxM1とメバロン酸経路関連因子の関係について検討したところ、HMGCRとFoxM1の遺伝子発現に正の相関を認め（$r=0.29$、$p<0.05$）、またHMGCRの発現を制御する転写因子SREBP2（Sterol regulatory element-binding protein 2）とFoxM1の遺伝子発現にも正の相関を認めた（$r=0.35$、$p<0.01$）。さらに、FoxM1高発現かつHMGCR高発現の群は、有意に術後の全生存期間が低下し（Log-rank test、$p<0.05$）、FoxM1高発現かつSREBP2高発現の群についても同様に術後の全生存期間が低下していた（Log-rank test、$p<0.01$）。以上から、ヒト肝癌臨床検体においてもFoxM1とメバロン酸経路との関連が示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

ヒト肝癌において、FoxM1の発現が癌脂質代謝メバロン酸経路により制御されることが示唆された。メバロン酸経路を標的としたFoxM1発現抑制は、ヒト肝癌に対する新たな治療戦略になり得る可能性が示唆された。