

Title	Hypoxia-Induced PLOD2 is a Key Regulator in Epithelial- Mesenchymal Transition and Chemoresistance in Biliary Tract Cancer
Author(s)	奥村, 雄一郎
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72530">https://hdl.handle.net/11094/72530</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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) 奥村 雄一郎	
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 竹原 徹印
	副 査 大阪大学教授 奥山 宏臣
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究は、低酸素で誘導される遺伝子であるPLOD2が胆道癌における化学療法耐性の重要な因子であることを示したものである。PLOD2が化学療法耐性を誘導する機序として、上皮間葉移行が重要な作用をしていることを細胞実験によって証明した。また消化器外科教室における胆道癌切除手術検体を用いた評価でも、PLOD2強陽性は全生存期間における独立した予後規定因子であり、臨床応用への可能性も示された。研究発表会においては、今後の研究の発展性として線維芽細胞との共培養による遊走能評価などが提案され、PLOD2の化学療法耐性化と、細胞骨格変化、幹細胞化などとの関連の可能性が討議された。PLOD2の免疫染色評価では染色陽性と陰性を鮮明に識別可能であり臨床応用への可能性も強調された。近年になって膀胱癌や子宮頸癌などでPLOD2と癌の悪性化に関する報告が続いているが、本研究におけるPLOD2の化学療法耐性化の機序は新たな知見である。</p> <p>以上より、その重要性からも本研究は学位の授与に値すると考えられる。</p>	

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	奥村 雄一郎
論文題名 Title	Hypoxia-Induced PLOD2 is a Key Regulator in Epithelial- Mesenchymal Transition and Chemoresistance in Biliary Tract Cancer (低酸素誘導遺伝子PLOD2は胆道癌における上皮間葉移行を介した化学療法耐性の重要な調節因子である)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>胆道癌に対する化学療法において確立された有効なレジメンは少ない。現在、ゲムシタピン(GEM)を基軸とした化学療法が施行されているが、長期間の薬剤投与後に薬剤耐性を示す症例も少なくなく、化学療法耐性機序の解明は重要な課題である。一方、腫瘍組織に特徴的な微小環境は近年、治療標的として注目されており、固形腫瘍において形成される低酸素環境は有望な標的である。その中でも低酸素刺激下において惹起されるProcollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2 (PLOD2)の発現は細胞外マトリックスの再構築を促進し、上皮間葉移行(EMT)を介した悪性化との関連が、子宮頸癌及び神経膠腫において報告されている。本研究では、胆道癌におけるPLOD2の発現とEMTを介した化学療法耐性との関連に着目し、予後マーカー及び治療ターゲットとしての有用性を明らかにすることを目的とした。</p> <p>〔方法(Methods)〕</p> <p>ヒト胆道癌細胞株3種(CCLP-1, TFK-1, NOZ)において、1%の酸素濃度とする低酸素培養条件下によるPLOD2の発現変化をqRT-PCR法、ウェスタンブロット法にて評価した。また細胞形態変化、GEMに対する感受性の変化をMTT法にて評価した。GEMの長期間曝露により樹立したGEM耐性株におけるPLOD2発現をqRT-PCR法にて評価した。GEM耐性株に対してsmall interfering RNAを用いたPLOD2の発現抑制を行い、GEMに対する感受性の変化をMTT法にて検討した。GEM耐性株における細胞形態変化、EMT関連マーカーの発現変化をqRT-PCR法にて評価した。当科で根治的手術を施行した胆道癌症例(n=52)の切除検体を用いて、PLOD2の発現を免疫組織学的染色法にて検討し、臨床病理学的因子、及びKaplan-Meier法による予後との関連を検討した。</p> <p>〔成績(Results)〕</p> <p>ヒト胆道癌株3種の全てにおいて、低酸素培養によりPLOD2のmRNAの発現は正常酸素条件下と比較して2.0倍から3.9倍に上昇を認め、PLOD2の蛋白発現も経時的に増加を認めた。低酸素培養によって細胞形態は紡錘状に変化を認めた。CCLP-1におけるGEM(15ng/mL, 72h)曝露時の増殖抑制効果は、正常酸素条件下では61.8%であるのに対し、低酸素培養下では8.0%であり、低酸素培養下にてGEM耐性を示した(p&lt;0.01)。TFK-1及びNOZにおいても同様の結果であった。GEM耐性株におけるPLOD2の発現は、親株と比較して2.7倍から6.5倍に有意に増加しており、紡錘状に細胞形態変化を認めた。GEM耐性株においてPLOD2の発現抑制下におけるGEM(120ng/mL, 72h)曝露時の増殖抑制効果は、親株で65.8%、GEM耐性株で7.5%、GEM耐性株+siPLOD2で37.3%であり、PLOD2の発現抑制によってGEMに対する感受性の改善を認めた(p&lt;0.01)。TFK-1, NOZにおいても同様の結果であった。細胞形態においてもGEM耐性株に対するPLOD2の発現抑制によって、紡錘状から敷石状への形態変化を示した。EMT関連マーカーに関する検討では、親株と比較してGEM耐性株において上皮系マーカーであるE-Cadherinの発現低下、及び間葉系マーカーであるN-Cadherin, Snail, Vimentinの発現亢進を認めた。GEM耐性株におけるPLOD2の発現抑制により、E-Cadherinの発現回復、並びにN-Cadherin, Snail, Vimentinの発現減弱を認めた。免疫組織学的染色の結果、胆道癌切除検体において癌部の細胞質にPLOD2の発現を認めた。PLOD2高発現群(19例)は、リンパ節転移陽性例、及びStageIII以上の臨床病期と有意な相関を示した。PLOD2高発現群は有意に無再発生存期間(p=0.011)、及び全生存期間(p&lt;0.001)の短縮を認め、またPLOD2高発現は全生存期間における独立予後因子であった(p=0.019, ハザード比:2.48)。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>胆道癌における低酸素誘導遺伝子PLOD2は、EMTを介した化学療法耐性の重要な調節因子であることが示された。胆道癌におけるPLOD2発現は予後マーカーとなり得る可能性、並びにGEM耐性を克服するための治療ターゲットとなり得る可能性が示唆された。</p>	