



Title	Mitochondrial pyruvate carrier modulates the epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma
Author(s)	大橋, 朋史
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76245
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。

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)		大橋 朋史	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	土岐 裕一郎
	副査	大阪大学教授	奥山 宏臣
	副査	大阪大学教授	石井 優
論文審査の結果の要旨			
<p>ミトコンドリアピルビン酸輸送体 (Mitochondrial Pyruvate Carrier ; MPC)は他癌種において、特にMPC1低発現では癌の浸潤能や転移能が高く、予後不良であることが報告されているが、胆管細胞癌におけるMPC1発現の臨床的意義と、癌悪性度についての関連性は明らかではなかった。</p> <p>本研究では胆管細胞癌切除検体におけるMPC1発現と臨床情報を解析し、MPC1が低発現の患者群は高発現の患者群に比して有意に無再発生存率が低値であり、臨床病理学的因子の解析ではMPC1低発現と脈管浸潤・遠隔転移が有意に相関する因子であることを示した。また、胆管細胞癌切除検体における結果を受けて、胆管細胞癌細胞株においてMPC1発現を抑制することで上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition ; EMT)が誘導されることを示した。さらにMPC1発現を強制発現させることで有意に浸潤能が低下することを示した。</p> <p>これらの結果は、胆管細胞癌においてMPC1がEMTの誘導因子として働き、MPC1が新たな治療標的となりう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	大橋 朋史
論文題名 Title	Mitochondrial pyruvate carrier modulates the epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma (ミトコンドリアピルビン酸輸送体は胆管細胞癌において上皮間葉転換の調節因子として働く)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>胆管細胞癌は外科的切除以外に根治的治療が存在せず、根治切除例においても再発率が高い予後不良な癌種の一つである。再発例や切除不能症例には主に化学療法が行われているが、その効果は十分なものではなく、治療成績向上のためには新規治療標的の研究が必要であると考えられる。癌細胞ではWarburg効果に代表される、正常細胞と異なる代謝によって生存に必要なエネルギー産生が行われていることが知られており、様々な癌種において癌代謝に関わる分子が治療標的として近年注目され研究が進められている。本研究では癌代謝に関わる分子としてミトコンドリアピルビン酸輸送体 (Mitochondrial Pyruvate Carrier ; 以下MPC)に着目した。MPCはミトコンドリア内膜に存在し、ミトコンドリア内へエネルギー源となるピルビン酸の取り込みを行う輸送体であり、サブユニットであるMPC1とMPC2から形成される。他癌種における遺伝子発現データを用いた研究において、特にMPC1低発現では癌の浸潤能や転移能が高く、予後不良であることが報告されている。癌細胞が浸潤能や転移能を獲得するメカニズムとして上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition ; 以下EMT)を起すことが知られている。本研究では胆管細胞癌におけるMPC1発現の臨床的意義と、癌悪性度に関してMPC1発現とEMTとの関係性について検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>1998年から2014年に大阪大学医学部附属病院にて根治切除を行った胆管細胞癌64症例を対象とし、切除標本を用いて免疫組織化学染色法によりMPC1発現を評価し、予後および臨床病理学的因子の解析を行った。染色強度は4段階とし、各患者サンプルの平均染色強度の中央値でMPC1低発現群と高発現群に分類したところ、MPC1低発現群は高発現群と比較して有意に無再発生存率が不良であった ($p=0.04$)。また、MPC1発現と臨床病理学的因子の解析では血清CA19-9値 ($p=0.04$)、尿管浸潤 ($p=0.02$)、遠隔転移 ($p=0.04$)がMPC1低発現と有意に相関する因子であった。臨床病理学的因子の解析においてMPC1発現とEMTとの関係性が示唆されたため、細胞実験にて実証することとした。</p> <p>細胞実験ではヒト胆管細胞癌細胞株であるCCLP-1、TFK-1を用いた。両細胞株の特徴として、CCLP-1の細胞形態はEMTを起こした細胞に特徴的な紡錘形であるのに対して、TFK-1は上皮系細胞に特徴的な円形、敷石状であった。qRT-PCR法とWestern Blot法を行ったところ、CCLP-1はTFK-1と比較してMPC1と上皮系細胞マーカーであるE-cadherinは低発現であった。EMTが誘導された細胞におけるMPC1発現の変化を調べるため、代表的なEMT誘導因子であるTGF-βを使用した。EMT誘導にはTFK-1を用い、TGF-β刺激を与えたところ、細胞形態は円形から紡錘形に変化し、E-cadherinの発現は低下しEMTが誘導されていることが確認された。TFK-1へのTGF-β刺激によるEMTの誘導前後においてMPC1発現は低下した。TFK-1を用いて、siRNAによってMPC1の発現をノックダウンし、細胞形態の変化、E-cadherinの発現変化について検討した。また、フローサイトメトリー法を用いて、MPC1発現抑制の前後における活性酸素 (Reactive Oxygen Species ; 以下ROS)の変化について検討した。MPC1発現抑制によって細胞形態は円形から紡錘形に変化し、E-cadherinの発現は低下したことから、EMT様の変化が起きていることが確認された。また、MPC1発現抑制の前後で細胞内のROSレベルは低下した。強制発現系の実験ではCCLP-1を用いて、pcDNA3-MPC1ベクターによってMPC1を強制発現させ、Wound healing assayを行い、浸潤能の変化について検討した。MPC1強制発現によって細胞生存率は変化することなく、浸潤能が低下することが確認された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>胆管細胞癌においてMPC1発現は、癌の浸潤能や転移能と関連し、EMTの調節因子として働き、新たな治療標的となる可能性が示唆された。</p>	