



Title	KIF15 Expression in Tumor-associated Monocytes Is a Prognostic Biomarker in Hepatocellular Carcinoma
Author(s)	北川, 彰洋
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76440
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	北川 彰洋
論文題名 Title	KIF15 Expression in Tumor-associated Monocytes Is a Prognostic Biomarker in Hepatocellular Carcinoma (肝細胞癌において腫瘍関連単球細胞に発現するKIF15は予後マーカーとなる)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 肝細胞癌では手術が根治的な治療であるが、再発や遠隔転移のためその成績は良好ではない。そこで再発・転移のメカニズムや予後のバイオマーカーを調べることは重要である。本研究では肝細胞癌(HCC)におけるKIF15発現の臨床的意義及び生物学的意義を明らかにする。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 1、臨床的意義 当院におけるHCC59例(qRT-PCR法、内部コントロールGAPDH発現で補正)、TCGA及びGEOのHCC大規模遺伝子データセットを用いてKIF15mRNA発現を非癌部と比較した。3つのcohortにおいてKIF15高発現、低発現2つのグループに分けて予後と比較した。当院のcohortにおいて臨床病理因子との関連を検討し、さらに単変量・多変量解析を行った。免疫染色法により腫瘍組織におけるKIF15発現の局在を観察した(Anti-KIF15(ab90735))。 3つのcohortにおいて、腫瘍組織でのKIF15 mRNAは非癌部と比較して高発現であった(Welch's t test, $P<0.001$)。さらにKIF15高発現群は低発現群と比較して予後不良であった(Kaplan-Meier method, Log rank test, $P<0.001$)。またKIF15高発現グループは低発現グループと比較して、腫瘍径が大きくまた分化度が低い傾向にあった(chi square tests, Fisher's exact test, $P<0.05$)。免疫染色法では癌細胞周囲の炎症細胞でKIF15が局在しており、非癌部の炎症細胞ではほとんど染色されなかった。以上より、KIF15高発現の炎症細胞が肝細胞癌の増殖能を亢進させるという仮説を立てて以下の実験を行った。 2、生物学的意義 TCGA datasetを用いてGene Set Enrichment Analysis (GSEA)でpathway解析を行い、腫瘍組織でKIF15と関連するgene setを調べた。蛍光免疫染色により、KIF15と細胞増殖マーカーであるMinichromosome maintenance 2: MCM2を染色した。さらにTCGA datasetを用いて、KIF15と細胞増殖能マーカー(MCM2及びProliferating cell nuclear antigen: PCNA)の関係を調べた。次に、肝細胞癌株(HepG2、HuH7)とKIF15発現細胞である末梢血単核球(PBMC)を共培養し、肝細胞癌株の増殖能をcolony formation assay及びMTT assayで評価した。さらに、共培養後のHepG2細胞におけるMCM2の発現が上昇することをwestern blotを用いて調べた。 HCC腫瘍組織において、KIF15はMYC/E2F target gene setと正の相関を示した($P<0.001$)。蛍光免疫染色により、KIF15高発現の炎症細胞の周囲にはMCM2高発現の癌細胞が存在することを確認した。またTCGA datasetを用いて、腫瘍組織ではKIF15はMCM2とPCNAと強い正相関を示すことを確かめた($R=0.771$, $R=0.630$, $P<0.001$)。HepG2細胞またはHuH7細胞とPBMCを共培養すると、単培養するよりも肝細胞癌株の細胞数の有意な増加を認めた。さらに共培養後のHepG2細胞は単培養と比較して有意なMCM2蛋白の上昇を認めた。 〔総 括(Conclusion)〕 腫瘍関連炎症細胞が癌細胞によって活性化され、宿主の免疫抑制やHCCを含むさまざまな癌細胞の血管新生または上皮間葉移行を引き起こすことにより、腫瘍の成長または転移を促進させるという報告が近年されている。HCCでは微小環境で腫瘍活性化単球から生じるTNFとIL-βが癌細胞のオートファジーを誘導し、その結果NFκ-B-SNA11 signaling pathwayを活性化することで転移を促進させるという報告もある。 本研究では、KIF15がHCC細胞周囲の炎症細胞で主に発現していることを示した。その高発現の炎症細胞が、癌細胞におけるMYC/E2F pathwayを活性化することでHCC細胞の増殖を促進し、HCCにおける新しい予後不良のバイオマーカーになる可能性がある。腫瘍関連炎症細胞のKIF15を阻害することで癌細胞の増殖を低下させる可能性があるため、HCC微小環境における有用な分子治療標的となるかもしれない。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 北川 彰洋		
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 特任	和田 尚
	副 査 大阪大学教授	竹原 敏一郎

論文審査の結果の要旨

Kinesin family member15 (KIF15)は細胞内輸送及び細胞分裂において重要な役割を果たすが、肝細胞癌の進展における役割は明らかでない。本研究の目的は肝細胞癌におけるKIF15発現の臨床的及び生物学的意義を明らかにすることである。多変量解析では*KIF15*高発現は独立予後不良因子であった。興味深いことに抗KIF15抗体での免疫染色ではKIF15蛋白は癌細胞と共に癌微小環境を構成する炎症性浸潤細胞群にも局在していた。また*KIF15*はGene set enrichment analysisでMYC_E2F pathwayと正相関を認めた。したがって癌微小環境の*in vitro*モデルとして、KIF15を発現する末梢血単核球との共培養実験を行った結果、肝癌細胞株の増殖が促進された。よってKIF15高発現の炎症細胞が癌の増殖に有利な微小環境を作ることが示唆された。本研究成果は、Cancer Genomics & Proteomics誌に投稿し査読の結果掲載された。研究を介して論理の思考過程と検証方法を習得したことは、学位の授与に値している。