



Title	ACAT-1-Regulated Cholesteryl Ester Accumulation Modulates Gemcitabine Resistance in Biliary Tract Cancer
Author(s)	植野, 吾郎
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87894
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	植野 吾郎
論文題名 Title	ACAT-1-Regulated Cholesteryl Ester Accumulation Modulates Gemcitabine Resistance in Biliary Tract Cancer (ACAT-1に制御されるコレステロールエステルの蓄積は胆道癌のゲムシタビン耐性を調整する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
胆道癌の根治的治療は外科切除であるが、たとえ切除可能であっても再発率は高くその治療成績は十分なものとは言えない。切除不能および転移・再発をきたした胆道癌に対する化学療法は、現在のところゲムシタビン（以下、GEM）ベースのレジメンが標準治療とされていること、またその他に推奨されるレジメンがないことから、GEMに対する治療抵抗性を克服することは重要な課題のひとつであると考えられる。これまで、がんでは一般的に脂質合成経路が亢進し、腫瘍増殖に必要な細胞内環境を形成することが報告されている。正常細胞内では、余剰なコレステロールは Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase（以下、ACAT-1）という酵素によってエステル化され、脂肪滴にコレステロールエステル（以下、CE）として蓄積される。近年様々な癌腫でACAT-1の発現が上昇していることが報告されており、その発現抑制を行うことで腫瘍の増殖能を抑制できる可能性や、ACAT-1阻害薬と既存の化学療法を併用することで増殖能を抑制できる可能性が報告されているが、胆道癌における意義は明らかではない。教室ではこれまでに胆道癌細胞におけるGEM耐性株を樹立しており、そのmRNAマイクロアレイ解析の結果から、ACAT-1の発現が親株に比べてGEM耐性株で上昇していることを確認した。本研究では、胆道癌におけるCEの定量を行い、ACAT-1の発現変化を評価することで、GEM耐性との関係性を解明することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
まず4種の胆道癌細胞株（CCLP-1、MzChA-1、NOZ、TFK-1）におけるCE量をコレステロールアッセイを用いて、ACAT-1のmRNA、タンパクの発現をqRT-PCR、ウエスタンブロットを用いてそれぞれ測定した。GEM曝露時のIC₅₀をGrowth inhibition assayで比較したところ、CEの蓄積量、ACAT-1の発現量に伴いIC₅₀の上昇を認めた。胆道癌細胞のGEM耐性株（MzChA-1 GR）と親株について、CEの蓄積量およびACAT-1の発現量を比較したところ、いずれも親株に比してGEM耐性株で有意に上昇しており、CEの蓄積量、ACAT-1の発現量とGEM耐性に関連性があることを確認した。次にACAT-1の発現変化に伴うCE蓄積量およびGEM感受性の変化について検討したところ、GEM耐性株においてsiRNAを用いたACAT-1の発現抑制を行うことにより、CEの蓄積量は低下し、GEM耐性は減弱した。またGEM耐性株にACAT-1阻害薬（avasimibe）を曝露したところ、72時間までの観察で経時的にACAT-1の発現量が低下し、CEの蓄積量低下とGEM耐性の減弱を認め、ACAT-1が治療標的になる可能性が示唆された。続いて、その機序についてウエスタンブロットを用いて検討したところ、GEM耐性株においてACAT-1阻害薬の曝露により小胞体ストレスマーカーであるGRP78（glucose-regulated protein 78）の発現亢進を認め、さらにACAT-1阻害薬とGEMの併用下において、アポトーシスマーカーであるcleaved caspase-3の発現が亢進していたことから、ACAT-1阻害薬の曝露による小胞体ストレスの上昇が、GEM併用下のアポトーシス誘導の増強に寄与したものと考えられた。最後に、胆道癌患者に対し術前治療なしで根治切除を行った症例を対象として、切除標本を用いて免疫組織化学染色を行いACAT-1の発現を解析した。術後GEM補助化学療法を行った症例では、ACAT-1高発現群では低発現群に比して無再発生存期間が有意に短縮しており、臨床的にもACAT-1の発現がGEM耐性に関与している可能性が示唆された。	
〔総括(Conclusion)〕	
本研究において、ACAT-1が胆道癌のGEM耐性と関連していることを明らかにし、ACAT-1阻害薬の曝露により小胞体ストレスを惹起しGEM併用下のアポトーシスの誘導が増強することを示した。以上より、胆道癌におけるACAT-1は治療標的となり、ACAT-1阻害薬を併用することでGEM耐性を克服できる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 植野 吾郎		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 江口 英利
	副 査	大阪大学教授 貴島 晴彦
	副 査	大阪大学教授 竹原 敏明

論文審査の結果の要旨

胆道癌の化学療法耐性を克服することは重要な課題である。本研究では、胆道癌におけるコレステロールエステル（CE）の定量を行い、CE合成反応を触媒する酵素ACAT-1の発現変化を評価し、ゲムシタビン（GEM）耐性との関係性について検討した。まず4種類の胆道癌細胞株を比較したところ、CE蓄積量とACAT-1発現量とGEM耐性の増減の傾向が一致していた。また胆道癌細胞のGEM耐性株では、親株に比してCEの蓄積、ACAT-1の発現が有意に上昇していた。次に、GEM耐性株におけるsiRNAを用いたACAT-1の発現抑制、およびACAT-1の阻害薬投与は、CEの蓄積を低下させ、GEM耐性を減弱させた。その機序として、GEM耐性株において、ACAT-1の阻害がGEM投与下の小胞体ストレスおよびアポトーシスを誘導していることを確認した。また、胆道癌切除標本の免疫組織化学染色によりACAT-1の発現を解析したところ、術後GEM補助化学療法を行った症例では、ACAT-1高発現群では低発現群に比して無再発生存期間が有意に短縮していた。以上より、胆道癌におけるACAT-1は治療標的となり、ACAT-1阻害薬を併用することでGEM耐性を克服できる可能性が示唆された。

本論文はAnnals of Surgical Oncologyに掲載され、学位の授与に値すると考える。