The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Low G9a expression is a tumor progression factor of colorectal cancer via IL-8 promotion
Author(s)	市川, 善章
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91771
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

[Format-P02]

論 文 内 容 の 要 旨

Synopsis of Thesis

氏　名 Name	市川　善章
論文題名 Title	Low G9a expression is a tumor progression factor of colorectal cancer via IL-8 promotion （G9aの低発現はIL-8の促進を介した大腸癌の腫瘍進展の因子となる）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

本研究の目的はヒストンメチル化酵素G9aとインターロイキン（IL）-8の関係性を明らかにすることと、G9aと臨床病理学的な特徴、予後を検討し、大腸癌の新たな予後因子のマーカーとなり得るかを調べることである。IL-8は、C-X-Cモチーフケモカインリガンド8（CXCL8）とも呼ばれ、炎症反応や癌の進展において多面的な機能を担うケモカインであることが知られている。IL-8の誘導はIL-8のプロモーター遺伝子のH3K9ジメチル化の低下と関連するとされている。臨床検体における、IL-8のタンパクレベルでの検出は困難であることから、我々はヒストンメチル化酵素G9aに着目した。G9aは、大腸癌を含む、様々な癌で高発現している。様々な癌腫において、G9aの高発現が予後が悪くなるという報告が多数あるが、逆に高発現が予後が良くなるという報告もある。しかし、G9aの大腸癌における標的遺伝子や機能は明らかとなっていない。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

The Cancer Genome Atlas（TCGA）によるオンラインプラットフォームで大腸癌患者のEHMT2(G9a)の発現と臨床病理学的因子や予後を検討した。EHMT2(G9a)の発現と大腸癌の進達度やステージとは相関は認めなかったが、EHMT2(G9a)の高発現群は低発現群と比較して有意に予後が良好であったことが示された。

当院で行った2010年9月から2012年12月までの大腸癌手術の検体235例に対してG9aに対する免疫組織染色を行った。その結果、大腸癌患者の年齢や性別、右側や左側、ステージなどの臨床病理学的な因子とG9aの発現には関連は認めなかった。G9aの高発現の群と低発現の群でカプランマイヤー曲線で予後を比較したところ、G9aの高発現群は低発現群よりも有意にoverall survival（OS），relapse free survival（RFS）が良好であった。また、単変量解析、多変量解析で予後因子を検討したところ、OS，RFSの両者においてG9aの高発現が独立した予後良好因子であることが示された。同様に大腸癌切除症例のステージII,IIIのみに絞った123例での免疫組織染色でも同様にG9aの高発現はOS，RFSの両者において独立した予後良好因子であることが示された。in vitroでは大腸癌細胞株をshRNA，siRNAを用いてG9aをノックダウンし、大腸癌細胞株におけるG9aの働きを調べた。Western blotとPolymerase chain reactionにより、G9aの発現が抑制された大腸癌細胞株（HCT116，HT29）において、IL-8の発現が有意に上昇したことが示された。また、G9a選択的阻害剤(BIX01294)を曝露させた細胞株において、同様にIL-8の発現が有意に上昇したことが示された。大腸癌細胞株にオキサリプラチンを曝露することで、最初の48時間はG9aの発現が上昇し、それに伴ってIL-8の発現が低下した。さらに、オキサリプラチンを１２０時間まで曝露するとG9aは減少し、それに伴ってIL-8の発現が上昇した。

Chemosensitivity assayではG9a発現抑制を行なった大腸癌細胞株（HCT116，HT29）において大腸癌化学療法のキードラッグであるオキサリプラチンの感受性が有意に低下したことが示された。Sphere formation assayでsphere形性能を調べたところ、siRNAを用いてIL-8の発現を抑制した大腸癌細胞株(HCT116)ではsphere形性能は低下した。また、G9aの発現を抑制した大腸癌細胞株(HCT116)では有意にsphere形性能が上昇した。

〔総　括(Conclusion)〕

The Cancer Genome Atlas（TCGA）によるオンラインプラットフォームで大腸癌患者のEHMT2(G9a)の発現と臨床病理学的因子や予後を検討した。EHMT2(G9a)の発現と大腸癌の進達度やステージとは相関は認めなかったが、EHMT2(G9a)の高発現群は低発現群と比較して有意に予後が良好であったことが示された。

当院で行った2010年9月から2012年12月までの大腸癌手術の検体235例に対してG9aに対する免疫組織染色を行った。その結果、大腸癌患者の年齢や性別、右側や左側、ステージなどの臨床病理学的な因子とG9aの発現には関連は認めなかった。G9aの高発現の群と低発現の群でカプランマイヤー曲線で予後を比較したところ、G9aの高発現群は低発現群よりも有意にoverall survival（OS），relapse free survival（RFS）が良好であった。また、単変量解析、多変量解析で予後因子を検討したところ、OS，RFSの両者においてG9aの高発現が独立した予後良好因子であることが示された。同様に大腸癌切除症例のステージII,IIIのみに絞った123例での免疫組織染色でも同様にG9aの高発現はOS，RFSの両者において独立した予後良好因子であることが示された。In vitroでは大腸癌細胞株をshRNA，siRNAを用いてG9aをノックダウンし、大腸癌細胞株におけるG9aの働きを調べた。Western blotとPolymerase chain reactionにより、G9aの発現が抑制された大腸癌細胞株（HCT116，HT29）において、IL-8の発現が有意に上昇したことが示された。また、G9a選択的阻害剤(BIX01294)を曝露させた細胞株において、同様にIL-8の発現が有意に上昇したことが示された。大腸癌細胞株にオキサリプラチンを曝露することで、最初の48時間はG9aの発現が上昇し、それに伴ってIL-8の発現が低下した。さらに、オキサリプラチンを１２０時間まで曝露するとG9aは減少し、それに伴ってIL-8の発現が上昇した。

Chemosensitivity assayではG9a発現抑制を行なった大腸癌細胞株（HCT116，HT29）において大腸癌化学療法のキードラッグであるオキサリプラチンの感受性が有意に低下したことが示された。Sphere formation assayでsphere形性能を調べたところ、siRNAを用いてIL-8の発現を抑制した大腸癌細胞株(HCT116)ではsphere形性能は低下した。また、G9aの発現を抑制した大腸癌細胞株(HCT116)では有意にsphere形性能が上昇した。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　市川　善章

		(職)	氏　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	江口 英利	署　名
	副　査	大阪大学教授	奥山 元臣	署　名
	副　査	大阪大学教授	竹田 潔	署　名

論文審査の結果の要旨

G9aは様々な癌で高発現することが報告されており、正常細胞においてIL-8の分泌を制御することが報告されている。大腸癌におけるG9aとIL-8の関係を解析することで新規マーカーや治療標的となり得るかを検討した。
大腸癌切除検体を用いた免疫組織染色では、G9aの高発現が無再発生存率と全生存率における独立した予後良好因子であった。さらにG9aの発現の抑制した、大腸癌細胞株(HCT116, HT29)において、IL-8の発現が有意に上昇した。
Chemosensitivity assayではG9a発現抑制を行なった大腸癌細胞株においてオキサリプラチンの感受性が有意に低下したことが示された。Sphere formation assayでsphere形性能を調べたところ、siRNAを用いてIL-8の発現を抑制した大腸癌細胞株ではsphere形性能は低下した。また、G9aの発現を抑制した大腸癌細胞株では有意にsphere形性能が上昇した。本研究ではG9aがIL-8の分泌を制御することで薬剤耐性やsphere形性能に関与することが示された。また、G9aの低発現は予後不良因子の新規マーカーとなり得る可能性を示した。
本研究結果は2022年5月 Carcinogenesis誌に発表されており、学位の授与に値すると考えられる。