



Title	Comprehensive Profiling of novel epithelial-mesenchymal transition mediators and their clinical significance in colorectal cancer
Author(s)	石川, 慧
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95970
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	石川 慧
論文題名 Title	Comprehensive profiling of novel epithelial-mesenchymal transition mediators and their clinical significance in colorectal cancer (大腸癌における新規上皮間葉転換関連遺伝子の探索と、その臨床的意義の検討)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) は上皮細胞が細胞接着や極性といった特徴を失い、間葉系細胞に類似した特徴を獲得する形質変化である。EMTは発生における器官形成や創傷治癒に不可欠である一方、種々の癌種において浸潤や転移といった悪性形質に寄与することが知られている。EMTを誘導する分子機構に関しては、ZEB1やSNAILといった代表的な転写因子の関与が知られているが、その詳細なメカニズムは依然不明な点が多い。大腸癌のトランスクリプトームは間質由来成分が多く割合を占める。またEMTを起こした細胞の遺伝子プロファイルは間葉系細胞のそれと類似していることから、上皮細胞と間葉系細胞の両方を含むバルクサンプルからEMTに特徴的な遺伝子プロファイルを得ることは困難である。そこで本研究では、大腸癌の上皮と間質の独立した遺伝子発現データをもとに、新規EMT関連遺伝子を同定すること、また同定した遺伝子の大腸癌における意義を検討することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
大腸癌切除標本の上皮・間質の独立したマイクロアレイデータ (GSE35602)、The Cancer Genome Atlas (TCGA) における大腸癌バルクサンプルのデータを解析に用いた。各遺伝子の間質と上皮における発現比をx軸に、TCGAデータでの各遺伝子と対象遺伝子との相関関係をy軸にプロットし、これらの間の相関係数をEMTの指標として対象遺伝子のMesenchymal scoreと名付けた。既知のEMTマーカー (VIM、SNAI2、ZEB1/2、TWIST1、CDH2、TGFB1、FOXC2) のMesenchymal scoreは、ランダムに選択した遺伝子と比較し有意に高値であった。このMesenchymal scoreと各遺伝子の間質・癌部での発現比をもとに、EMTに関わる可能性が高いと考えられる90の候補遺伝子を抽出した。90のEMT関連遺伝子候補と既知の間葉系マーカー (VIM、SNAI2、ZEB1/2、TWIST1、CDH2、TGFB1)、上皮系マーカー (CDH1、CLDN1) の発現を用いてCancer Cell Line Encyclopediaの51の大腸癌細胞株をクラスタリングしたところ、新規EMT候補遺伝子は既知の間葉系マーカーと類似の発現形態を示すことが確認された。 今回同定した90のEMT関連遺伝子候補のうち、27遺伝子にEMTに関連する既報を認めた。検証のため、この中の一部の遺伝子PRNP、HOXC6、MARK4について大腸癌細胞株HCT116において発現抑制を行ったところ、それぞれCDH1の発現上昇を認めた。 次に、今回同定した候補遺伝子の中からこれまで癌やEMTとの関わりが知られていない遺伝子の一つであるARC (activity regulated cytoskeleton associated protein) に着目した。ARCは哺乳類の神経組織に高発現し、シナプス可塑性や記憶の定着における主要制御因子であることが知られているが、悪性腫瘍に関連する報告はない。大腸癌細胞株SW480、HCT116におけるARCの発現抑制により、E-cadherinの発現上昇、間葉系マーカーの発現低下、細胞遊走能、浸潤能の低下を認めた。ARC発現抑制株を用いたRNAシーケンスにおけるGene set enrichment analysisにより、ARC発現がTGF-β経路と関連することが示唆されたため、TGF-β曝露によるEMT誘導とARC発現の関わりについて検討した。SW480においてTGF-β1曝露を行ったところ、ARCの発現が誘導された。またTGF-β1曝露によりpSMAD2/3の発現上昇、E-cadherinの発現低下、ZEB1の発現上昇を認めたが、この効果はARCの発現抑制により減弱した。 最後に、臨床検体でのARCの発現と臨床病理学的因子および予後との関連を検討するため、大阪大学消化器外科での大腸癌切除症例100例に対し免疫組織化学染色を行った。その結果、ARCの発現とリンパ節転移、リンパ管侵襲に有意な関連を認め、またARC陽性は無再発生存に対する不良因子であることが明らかとなった。	
〔総 括(Conclusion)〕	
大腸癌の上皮と間質の独立した解析により、新規EMT関連遺伝子候補の同定に成功した。これらの遺伝子の一つであるARCについて、大腸癌の悪性形質への寄与と臨床病理学的意義、再発への関わりが明らかとなった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 石川 憲				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	江口 英利	署 名
	副 査	大阪大学教授	猪俣 勇典	署 名
	副 査	大阪大学教授	岡田 陽介	署 名

論文審査の結果の要旨

上皮間葉転換は種々の癌腫において悪性形質獲得に寄与することが知られているが、バルクサンプルのみを用いて上皮間葉転換を起こした細胞に特異的な遺伝子プロファイルを同定することは困難であり、その分子機構は十分に明らかになっていない。本研究では大腸癌の上皮と間質の独立した遺伝子発現データを用いて、The Cancer Genome Atlas データベースと併せて解析することにより90の新規上皮間葉転換関連遺伝子候補を同定することに成功した。またその内の一つであり、これまでに上皮間葉転換に関連する報告のないActivity Regulated Cytoskeleton Associated Protein (ARC) 遺伝子の大腸癌における機能について詳細に検討し、実際にARC遺伝子がTGF β により誘導される上皮間葉転換に関連することを示したことから博士(医学)の学位授与に値する。