

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	Pham Quoc Thang
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 TDO2 Overexpression Is Associated with Cancer Stem Cells and Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma (食道扁平上皮癌における TDO2 の過剰発現は癌幹細胞および不良な予後と関連する)			
論文審査担当者			
主 査	教授	伊 藤	公 訓 印
審査委員	教授	田 中	信 治
審査委員	講師	濱 井	洋 一
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>食道癌は世界でも頻度が高く、予後不良な癌のひとつである。食道癌には扁平上皮癌と腺癌の 2 つの組織型があり、90%が扁平上皮癌である。食道癌に対する分子標的治療は限られており、いくつかの臨床試験が開始されているが、食道扁平上皮癌を対象としたものはひとつしかない。したがって、新しい新規診断・治療標的分子の同定は急務である。スフェロイドコロニーアッセイは、癌幹細胞の特定に有用であることが知られている。以前分子病理学研究室において、胃癌細胞株のスフェロイドコロニー形成細胞の遺伝子発現プロファイル解析により、発現亢進するいくつかの遺伝子を同定した。それらの中で、tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO2) は、他の胃癌細胞株と比較して腺扁平上皮癌由来の MKN-1 細胞で劇的に発現が亢進していたことから注目した。トリプトファン異化作用に関与する酵素 TDO2 の過剰発現は、癌細胞の生存を促進し、乳癌や脳腫瘍のグレードおよび予後不良と関連することが報告されている。しかし、食道扁平上皮癌における TDO2 の発現と生物学的意義については全く解析されていない。本研究で著者らは、食道扁平上皮癌における TDO2 の発現と臨床病理学的因子、予後との関連を解析した。また、食道扁平上皮癌細胞株を用い、TDO2 のスフェロイドコロニー形成能、細胞増殖・浸潤に対する効果を検討した。</p> <p>TDO2 発現の in silico 解析には、Broad Institute TCGA Genome Data Analysis Center (<a href="http://firebrowse.org/">http://firebrowse.org/</a>) を使用した。定量的 qRT-PCR により、食道扁平上皮癌 10 症例の癌組織および非癌部組織の TDO2 発現量を測定した。広島大学病院で外科的に切除された食道扁平上皮癌組織を材料に TDO2 蛋白の発現を免疫組織化学的に解析した。TDO2 の機能解析には食道扁</p>			

平上皮癌細胞株 (TE-1、TE-5、TE-10、TE-11) を使用し RNAi による発現抑制系を用いた。スフェロイドコロニー形成に及ぼす TDO2 の影響を解析するとともに、細胞増殖は MTT アッセイにて、細胞浸潤はボイデンチャンバーアッセイにて評価した。

TCGA データセットの解析では、殆どの悪性腫瘍で TDO2 の発現亢進が認められ、癌組織と正常組織における TDO2 発現比は食道癌で最も高かった。食道扁平上皮癌の組織サンプル (癌組織と非癌部組織) における TDO2 の発現を qRT-PCR によって評価したところ、食道扁平上皮癌症例の 80% (8/10) において癌組織での高発現が認められた。90 例の食道扁平上皮癌症例における TDO2 の免疫組織化学的発現と臨床病理学的因子との関連解析では、T grade ( $p = 0.001$ )、Stage の進行 ( $p = 0.001$ )、再発 ( $p = 0.012$ ) との間に有意な相関を認めた。

Kaplan-Meier 法で予後を検討したところ、TDO2 高発現例は有意に予後不良であった ( $p = 0.015$ )。TDO2 の発現と CD44 の発現との間に有意な相関を認めた ( $p = 0.026$ )。

食道扁平上皮癌細胞株 4 株すべてにおいてスフェロイド形成細胞で親細胞と比較して TDO2 mRNA レベルは有意に上昇しており、CD44 の発現も上昇していた。TDO2 siRNA をトランスフェクトした TE-10、TE-11 細胞は、コントロールと比較して、スフェロイドの数、大きさともに減少を示した。同様に TDO2 の発現抑制により、細胞増殖並びに細胞浸潤は有意に低下した。EGFR は RAS-MEK-ERK および AKT-PI3K 経路を活性化し、癌細胞の増殖と生存に寄与することが知られている。そこで、EGFR シグナル伝達経路に対する TDO2 阻害の影響を検討した。TDO2 siRNA をトランスフェクトした TE-11、TE-10 細胞では、コントロールと比較して、リン酸化 EGFR、Akt、Erk のレベルが低下した。

本研究では、TDO2 の過剰発現が食道扁平上皮癌の進展・悪性度と関連しており、癌細胞の増殖・浸潤と癌幹細胞性に関連していること明らかとなった。食道扁平上皮癌細胞における TDO2 の抑制は、EGFR シグナル伝達経路の不活性化をもたらすことが示された。

以上の結果から、本論文は TDO2 が食道扁平上皮癌において新規治療標的分子となる可能性を示唆した点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。