

論 文 内 容 要 旨

KIFC1 regulates ZWINT to promote tumor progression
and spheroid formation in colorectal cancer

(大腸癌において KIFC1 は ZWINT を制御し、
腫瘍進展・スフェロイド形成を促進する)

Pathology International, 2021, in press

主指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：大上 直秀准教授

(医系科学研究科 分子病理学)

副指導教員：小林 剛准教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

赤羽 慎太郎

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

大腸癌は世界的に患者数の多い疾患であり、年間に約 180 万人が新規に罹患し（第 3 位）、約 90 万人が大腸癌で死亡している（第 2 位）。分子標的薬の登場もあり化学療法の有効性が示されるようになったが、特に進行・再発大腸癌の予後は未だ十分とはいえず、ハイリスク症例を同定できるバイオマーカーの探索および再発・転移癌の治療標的となり得る分子を同定することは急務と考えられる。近年、癌の再発・転移、治療抵抗性の原因として、癌幹細胞の関与が考えられており、癌幹細胞に関わる遺伝子を同定する上でスフェロイド培養が注目されている。当研究室での先行研究で、胃癌細胞株を材料に作られたスフェロイドにおいて、Kinesin Family Member C1 (KIFC1) 遺伝子の発現が亢進していることが確認された。KIFC1 は真核生物の細胞質に含まれるモータータンパク質の一種であり、細胞分裂や細胞内物質輸送に役割を果たしている。悪性腫瘍においては Centrosome clustering (中心体クラスタリング) を引き起こすとされており、種々の癌において発現亢進が報告されている。当教室においても、KIFC1 が胃癌組織において高発現しており、腫瘍形成・幹細胞性に関与していることを報告した。しかしこれまで大腸癌における KIFC1 の解析は行われていない。本研究では KIFC1 の大腸癌における発現・機能解析を行った。

外科的に切除された大腸癌 129 例を材料に、免疫染色と qRT-PCR で KIFC1 の発現解析を行い、臨床病理学的因子との関連を検討した。また、大腸癌細胞株に対し siRNA による KIFC1 の knock down を行い、機能解析を行った。さらに、新規 KIFC1 阻害剤として Kolavenic acid analog (KAA) が同定されおり、KAA の大腸癌細胞株に与える効果を解析した。

qRT-PCR での検討では、KIFC1 の発現は正常臓器と比較し大腸癌組織で高くなっていた。外科的に切除された 129 症例の大腸癌切除標本を用いて KIFC1 の免疫組織化学染色を行った。KIFC1 は大腸癌細胞の核に染色される傾向にあり、核の 10% 以上が染色されるものを陽性とする、大腸癌 129 症例中 67 症例(52%) が陽性であった。CD44・ALDH-1 などの癌幹細胞マーカーの免疫染色も行ったところ、KIFC1 発現は癌幹細胞マーカー発現と有意な相関を示しており、KIFC1 の癌幹細胞性への関与が考えられた。臨床病理学的因子との検討を行うと、KIFC1

陽性例は N grade ($p = 0.011$), Stage ($p = 0.001$)と有意な相関を示した。Kaplan-Meier 法による検討では、KIFC1 陽性例は有意に予後不良であった (Log-rank $p = 0.019$)。多変量解析においても KIFC1 は独立した予後不良因子であった ($p = 0.029$)。

大腸癌細胞株において siRNA による knock down を行ったところ、細胞増殖能が低下し、増殖シグナルの p-Akt, p-Erk の低下を認めた。また、KIFC1 の knock down 細胞では有意にスフェロイド形成能が低下した。続いて KAA の大腸癌細胞株に対する感受性試験を行ったところ、増殖抑制効果を認めた。さらに、薬剤暴露群と control 群とでマイクロアレイによる遺伝子発現を比較したところ、KIFC1 に加え、ZW10 interacting kinetochore protein (ZWINT) 遺伝子の発現も同時に低下していた。免疫染色で ZWINT は大腸癌細胞の細胞質に染色され、129 症例中 61 症例(47%)が陽性であった。ZWINT 発現は KIFC1 発現ならびに癌の進行と有意な相関を示していた。ZWINT 陽性例は有意に予後不良であり (Log-rank $p < 0.001$)、多変量解析においても ZWINT は独立した予後不良因子であった ($p = 0.035$)。KAA による KIFC1 および ZWINT の発現低下は蛋白レベルでも確認された。細胞株において siRNA による ZWINT の knock down を行ったところ、細胞増殖能が低下し、増殖シグナルの p-Akt, p-Erk の低下を認めたが、KIFC1 の発現には影響を及ぼさなかった。また、ZWINT の knock down 細胞では有意にスフェロイド形成能が低下していた。

以上のことから、大腸癌において KIFC1 は癌幹細胞性に関与し、ZWINT を制御することにより、腫瘍進展・スフェロイド形成を促進する可能性が示された。