

論文内容要旨

IQ motif containing GTPase activating protein 3 is associated with cancer stemness and survival in pancreatic ductal adenocarcinoma

(IQ motif containing GTPase activating protein 3

は膵癌のがん幹細胞性と予後に関与する)

Pathobiology, 2023, in press.

主指導教員：武島 幸男 教授

(医系科学研究科 病理学)

副指導教員：宮内 睦美 教授

(医系科学研究科 口腔顎顔面病理病態学)

副指導教員：仙谷 和弘 講師

(医系科学研究科 分子病理学)

城戸 綾

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

膵癌は予後不良な癌の一つであり、分子標的治療を含めた新たな治療法の同定が必要とされている。近年、癌の再発、転移や薬剤耐性とがん幹細胞との関連が注目されている。がん幹細胞を効率よく同定する方法のひとつにスフェロイドコロニー形成法がある。当研究室ではこれまでに、スフェロイド形成した状態の胃癌細胞株と通常の接着した状態の胃癌細胞株における遺伝子発現をマイクロアレイ解析により比較検討し、IQ motif containing GTPase activating protein 3 (IQGAP3)や kinesin family member C1 (KIFC1)などが胃癌のがん幹細胞性に関与することを報告した。このうち IQGAP3 に注目して行われた先行研究では、外科的胃癌切除組織を用いた免疫組織化学的検討によって IQGAP3 が非癌部に比べ癌部で高発現し、IQGAP3 の高発現が独立した予後不良因子であること、さらに細胞増殖やスフェロイド形成能に関与していることが示されていた。IQGAP3 は IQGAP ファミリーのひとつであり、細胞骨格のリモデリングと細胞シグナル伝達を促進することによって複数の細胞活動を制御すると考えられている。胃癌の他にも肝細胞癌、乳癌、肺癌などの予後バイオマーカーとして近年報告されている。膵癌においては *IQGAP3* mRNA が高発現し、腫瘍の進行に関与する報告がある。しかし免疫組織化学的解析やがん幹細胞性についての検討は行われていない。そこで本研究では膵癌における IQGAP3 の臨床病理学的意義ならびに生物学的機能を明らかにすることを目的とした。さらに IQGAP3 と KIFC1 を含めたがん幹細胞マーカーとの関連性についても検討した。

はじめに外科的に切除された膵癌組織を材料に免疫組織化学的検討を行ったところ、IQGAP3 は腫瘍細胞の細胞膜と細胞質に陽性であった。一方、非腫瘍部組織では IQGAP3 の発現はほとんど認められなかった。腫瘍細胞の 50%以上が染色された症例を IQGAP3 陽性とする、81 例中 44 例 (54.3%)が陽性であった。Kaplan-Meier 法で予後との関連を検討したところ、IQGAP3 陽性例は陰性例に比べ有意に予後不良であった ($p = 0.0197$)。単変量および多変量解析を用いた検討でも、IQGAP3 の発現は独立した予後不良因子であった ($p = 0.0484$)。

これらの解析が他のコホートでも再現性があるかを確認するため、公共データベース (The Cancer Genome Atlas: TCGA)を用いた解析も行った。IQGAP3 と組織グレードとの間に発現

の相関が見られた ($p = 0.0126$)。我々のコホートでの結果と同様に、IQGAP3 陽性群は陰性群に比べ有意に予後不良であり ($p = 0.0325$)、独立した予後不良因子となっていた ($p = 0.0409$)。

次に、膵癌切除例について KIFC1 を含めたがん幹細胞マーカーと IQGAP3 の関連についての免疫組織化学的解析を行った。既報では、KIFC1 は膵癌において発現亢進と予後不良因子であることが報告された分子であり、がん幹細胞性に関わる可能性が示唆されている。IQGAP3 の発現と CD44、CD133 との間に有意な相関は見られなかったが、IQGAP3 は KIFC1 と有意に正の相関をしていた。また、TCGA のデータ解析では、IQGAP3 の発現は KIFC1、CD133、CD44 いずれの発現にも有意な正の相関が認められた。

IQGAP3 の膵癌細胞における機能を明らかにする目的で、膵癌細胞株 T3M-4 に対して siRNA を用いて *IQGAP3* をノックダウンし、MTT assay によって増殖能を、Spheroid formation assay にてスフェロイド形成能を評価した。*IQGAP3* をノックダウンした膵癌細胞は negative control siRNA で処理した膵癌細胞と比較して増殖能とスフェロイド形成能が有意に抑制された。また *IQGAP3* をノックダウンした細胞では p-AKT, p-ERK が減弱していた。これらのことから IQGAP3 は膵癌の増殖能を制御し、がん幹細胞性に関わることが明らかとなった。

以上の結果より、IQGAP3 は膵癌の予後不良因子であり、がん幹細胞性への関与も示唆された。膵癌における新しい治療標的として応用され得る可能性が示された。