

令和 5年 3月

原和志 学位論文審査要旨

主 査 岡 田 太
副主査 藤 原 義 之
同 中 曾 一 裕

主論文

TYR03 promotes chemoresistance via increased LC3 expression in pancreatic cancer

(TYR03はLC3の発現増加を介して膵癌の化学療法抵抗性を促進する)

(著者：原和志、堀越洋輔、森本昌樹、中曾一裕、砂口天兵、倉敷達之、中山祐二、
花木武彦、山本学、坂本照尚、藤原義之、松浦達也)

令和5年 Translational Oncology 28巻 101608

参考論文

1. Small bowel stenosis after blunt abdominal trauma: a case report

(鈍的外傷後の小腸狭窄:症例報告)

(著者：原和志、山本学、坂本照尚、菅澤健、植嶋千尋、谷尾彬充、多田陽一郎、
花木武彦、宮谷幸三、渡邊浄司、木原恭一、徳安成郎、高野周一、
本城総一郎、藤原義之)

令和2年 Surgical Case Reports 6巻 115

2. Prognostic significance of TYR03 receptor tyrosine kinase expression in gastric cancer

(胃癌におけるTYR03受容体チロシンキナーゼ発現の予後予測上の重要性)

(著者：植嶋千尋、森本昌樹、山本学、原和志、宮内亘、菅澤健、多田陽一郎、
谷尾彬充、木原恭一、松永知之、徳安成郎、坂本照尚、本城総一郎、
梅北義久、藤原義之)

令和2年 Anticancer Research 40巻 5593頁～5600頁

学 位 論 文 要 旨

TYR03 promotes chemoresistance via increased LC3 expression in pancreatic cancer
(TYR03はLC3の発現増加を介して膵癌の化学療法抵抗性を促進する)

膵癌は治療抵抗性を有する代表的な難治癌の1つであり、新規治療標的分子の同定が切望されている。チロシンキナーゼ受容体TAM familyに属するTYR03はいくつかの癌腫でその発現が細胞増殖・浸潤に関与することが報告されているが、薬剤治療抵抗性に関する知見はほとんどない。本研究はTYR03による治療抵抗性の獲得とその分子機構について解析し、膵癌の新たな治療標的としての可能性を精査した。

方 法

2種類のヒト膵癌細胞株PANC-1、MIA-PaCa-2を用いて、TYR03の過剰発現・発現抑制を行い、化学療法で用いられるGemcitabineおよび5-FUの誘導する細胞死やアポトーシスを測定した。化学療法抵抗性獲得に関わる事が報告されているオートファジーに着目し、TYR03の過剰発現・発現抑制によりオートファジーの活性変化について検討した。また、TYR03を発現抑制したヒト膵癌細胞株をヌードマウスへ異種移植実験を行い、移植細胞のGemcitabine感受性の変化について検討した。さらに、浸潤性膵管癌に対して膵切除を行った106人の患者の切除検体を用いて、膵癌組織中のLC3の発現と予後との関連、またTYR03の発現との相関について検討した。

結 果

TYR03の発現抑制により、Gemcitabineおよび5-FUの誘導するアポトーシスが增加し細胞の生存率は、コントロールと比較して有意に低下することを示した。一方、TYR03の過剰発現では生存率は有意に増加した。これらの薬剤に対する抵抗性獲得の機序としてTYR03を介したオートファジーの誘導に着目した。オートファジー関連分子であるLC3-IIのタンパク発現は、TYR03発現を抑制することで低下し、逆に過剰発現することで増加した。LC3のmRNA発現量の変化についてRT-qPCRを用いて検討した結果、TYR03発現と相関していた。これらの結果から、TYR03はLC3の発現を転写レベルで制御している事が明らかとなった。また、共焦点顕微鏡を用いた観察から、TYR03の過剰発現は、オートファゴソーム形成が促進されており、オートファジー経路の活性化が起きていることが明らかとなった。

ヌードマウスにコントロールおよびTYR03発現抑制したMIA-PaCa-2を移植し腫瘍を形成させた。このマウスにGemcitabineあるいは5-FUを腹腔内投与し、腫瘍径と重量を比較した。その結果、TYR03の発現抑制により腫瘍径と重量は著しく減少した。さらに、浸潤性膵管癌切除検体を用いた免疫組織化学による検討から、LC3の発現はTYR03の発現と有意に相関していることが判明した。単変量解析および多変量解析によりLC3発現が膵癌患者の全生存期間における独立した規定因子であることが示された。

考 察

本研究は、TYR03が誘導するオートファジーを介した化学療法抵抗性獲得に関する最初の報告となった。悪性腫瘍においては化学療法などのストレス環境下での生存機構としてオートファジーが近年注目されている。今回、TYR03がオートファゴソームの形成を促進することを明らかにしたが、その詳細な分子機構に関しては議論の余地がある。オートファジー誘導の重要な制御因子はAMPKシグナル伝達経路やBeclin、Atgなどが知られているが、TYR03とこれらの分子の関連は示すことができなかった。オートファゴソーム形成に必要なLC3のmRNAレベルは、TYR03の発現に相関しており、LC3の転写を制御している可能性が示唆された。患者検体を用いた検討においては、LC3の発現が膵癌患者予後を規定していた。この結果は、LC3発現が化学療法抵抗性の獲得に関わっている事が示唆された。また、LC3発現は、TYR03の発現と有意な相関が確認されたことから、実際の膵癌においてLC3発現制御にTYR03が関わることを示唆された。以上より、TYR03を標的とすることは、下流のオートファジーを介した化学療法抵抗性を克服する新たな膵癌治療法の開発につながると考えられる。

結 論

チロシンキナーゼ受容体TYR03はオートファジーを介した膵癌の化学療法抵抗性に関与することが示唆され、膵癌の新規治療標的となり得ると考えられる。