

令和 5年 3月

宮内 亘 学位論文審査要旨

主 査 磯 本 一
副主査 梅 北 善 久
同 藤 原 義 之

主論文

Simultaneous regulation of ferroptosis suppressor protein 1 and glutathione peroxidase 4 as a new therapeutic strategy of ferroptosis for esophageal squamous cell carcinoma

(FSP1とGPX4の同時制御によるフェロトーシスを介した食道扁平上皮癌の新しい治療戦略の可能性)

(著者：宮内亘、宍戸裕二、梶見吉朗、松永知之、牧野谷真弘、清水翔太、宮谷幸造、坂本照尚、梅北善久、長谷川利路、藤原義之)

令和4年 Esophagus doi.org/10.1007/s10388-022-00982-x

参考論文

1. Comparisons of postoperative complications and nutritional status after proximal laparoscopic gastrectomy with esophagogastrostomy and double-tract reconstruction

(噴門側胃切除における食道残胃吻合とDouble tract法の術後成績の比較)

(著者：宮内亘、松永知之、宍戸裕二、宮谷幸造、花木武彦、木原恭一、山本学、徳安成朗、高野周一、坂本照尚、本城総一郎、齊藤博昭、藤原義之)

令和2年 Yonago Acta Medica 63巻 335頁～342頁

学位論文要旨

Simultaneous regulation of ferroptosis suppressor protein 1 and glutathione peroxidase 4 as a new therapeutic strategy of ferroptosis for esophageal squamous cell carcinoma

(FSP1とGPX4の同時制御によるフェロトーシスを介した食道扁平上皮癌の新しい治療戦略の可能性)

Ferroptosis suppressor protein 1 (FSP1) と Glutathione peroxidase 4 (GPX4) は、フェロトーシスの抑制因子として同定された。フェロトーシスは鉄に依存した脂質過酸化反応による細胞死である。食道癌は予後不良の癌の一つであり、p53変異率が高いためアポトーシス耐性が強い。現在食道癌に使用される抗癌剤は、アポトーシスを誘導する機序のため、フェロトーシスは新たな癌治療の標的になる可能性があるとして注目されている。本研究では、食道扁平上皮癌 (ESCC) 患者におけるFSP1およびGPX4の発現が予後と相関するか検討し、ESCC細胞株でこれらの抑制による細胞生存率の変化を評価した。

方法

2009年から2017年にかけて、当院でESCC根治手術が行われたESCC患者97名が対象。ESCCの摘出標本で免疫組織化学染色を行い、FSP1およびGPX4の発現を評価した。FSP1とGPX4の腫瘍染色面積で、それぞれ陽性・陰性に分け、全生存期間 (OS) と無再発生存期間 (RFS) について Kaplan-Meier 曲線を描いてログランク検定を行った。また、OSについて予後因子を特定するために、単変量・多変量解析を行った。

次に、3種類のヒトESCC細胞株 (KYSE30、KYSE510、KYSE520) にFSP1阻害薬およびGPX4阻害薬をそれぞれ単体または同時に投与して細胞生存率の変化を評価した。さらに上記に加え、フェロトーシス阻害薬 (Lipro-1)、アポトーシス阻害薬 (Z-VAD)、ネクローシス阻害薬 (Necro-1) をそれぞれ投与して細胞生存率の変化を評価した。

結果

FSP1は97例中20例が陽性、GPX4は97例中40例が陽性であった。FSP1陽性群の予後は陰性群に比べてOS・RFSとも有意に悪かった (OS:P=0.009、RFS:P=0.039)。GPX4でもOS・RFSとも有意に陽性群で悪かった (OS:P<0.001、RFS:P<0.001)。さらに、FSP1とGPX4の発現の組み合わせ、すなわち、FSP1とGPX4が両方陽性群・片方のみ陽性群・両方陰性群の3群

に分けて予後を検討した。両方陽性群は他の群と比較して有意に予後が悪かった ($P < 0.001$)。多変量解析では、FSP1とGPX4両方陽性であることが、独立した予後因子として特定された ($P=0.002$)。

次に、ヒトESCC細胞株を用いてFSP1およびGPX4の抑制が細胞死を誘発するか調べた。ウエスタンブロッティングで評価したFSP1およびGPX4の発現度は細胞株で異なり、KYSE30はFSP1陰性・GPX4中発現、KYSE510はFSP1低発現・GPX4高発現、KYSE520はFSP1低発現・GPX4低発現であった。iFSP1単剤投与では、KYSE30では細胞生存率に変化はなかった。

KYSE510では細胞生存率が低下する傾向にあり、KYSE520では有意に低下した

($P < 0.001$)。RSL3単剤投与では、全ての細胞株で有意に細胞生存率が低下した

($P < 0.001$)。KYSE510およびKYSE520では、iFSP1とRSL3の併用で、単剤投与時よりも強力に細胞生存率の低下を引き起こした ($P < 0.001$)。全ての投与パターンで、iFSP1およびRSL3投与による細胞生存率低下は、Lipro-1投与により打ち消された ($P < 0.001$)。さらにiFSP1とRSL3の併用による細胞生存率低下が、他の細胞死抑制剤によって打ち消されるかどうか検討したところ、全ての細胞株で、Lipro-1の投与により細胞生存率低下は有意に打ち消された ($P < 0.001$) が、Z-VADおよびNecro-1の投与では打ち消されなかった。

考 察

本研究では、FSP1およびGPX4の発現が、ESCC患者の予後と関連することを明らかにした。さらに、これらの因子を同時に抑制することで、ESCC細胞株においてフェロトーシスが顕著に誘導されることも明らかになった。我々の知る限り、FSP1とGPX4の組み合わせとESCC患者の予後との相関を示したのは本研究が初めてである。フェロトーシスはアポトーシス抵抗性のある腫瘍でも細胞死を誘導する可能性が示されている。現在の食道癌化学療法で使用される抗癌剤は、アポトーシスにより抗腫瘍効果を発揮するが、ESCCはアポトーシス抵抗性が高く化学療法に対しても抵抗性が高い。フェロトーシスを機序とする新規治療が開発されれば、ESCC患者の予後改善に寄与する可能性がある。

結 論

FSP1とGPX4の高発現、特に両方高発現の場合は、ESCCの予後不良因子であった。ESCC細胞株では、FSP1とGPX4の両方を同時に抑制すると強力な細胞死を引き起こし、その細胞死はフェロトーシス阻害薬で顕著に打ち消された。これらの結果は、FSP1とGPX4の同時制御がESCC患者の治療の新しい標的になる可能性を示している。