

論 文 要 旨

As a Novel Prognostic Marker, Cysteine/histidine-rich1(CYHR1)
is a Therapeutic Target in Patients with
Esophageal Squamous Cell Carcinoma

食道扁平上皮癌患者において Cystein/Histidine-rich1
(CYHR1)は新しい予後因子となるだけでなく
治療標的になり得る

出先 亮介

【序論及び目的】

食道癌は非常に予後が悪く 5 年生存率も 15~37.8%と低い。術後の予後は UICC のステージにより決定されるが、腫瘍の生物学的悪性度を正確に反映しているとは言えない。食道癌で予後因子となるバイオマーカーを発見することは重要と考えられている。食道扁平上皮癌の発癌背景については喫煙や飲酒と同様に遺伝子多型について報告されてきた。これまでに申請者らも ADH1B や ALDH2 が食道扁平上皮癌と関連していることや、食道扁平上皮癌のマイクロアレイ分析にて GNG7, MMP7, STC2, FOXC2, FBXO31, FBXW7, VIM, CDCP1 といった予後因子を同定し報告してきた。Cysteine/histidine-rich 1 (CYHR1)はこれまでの研究の中で予後因子の候補であり、マウスの galectin-3 とともに yeast から発見されたが、これまで CYHR1 遺伝子と人の癌との関連性は研究されていない。今回、食道扁平上皮癌における CYHR1 遺伝子の役割及び意義を評価するために、small interfering RNA (siRNA) 導入を用い、CYHR1 の発現を抑制した食道扁平上皮癌細胞を作成し機能分析を行った。また臨床標本を用いて CYHR1 の発現を評価し、食道扁平上皮癌における臨床病理学的特徴や予後との関連を分析した。

【材料及び方法】

ヒトの食道扁平上皮癌の細胞株である TE-8, TE-9, KYSE-50, KYSE-70, KYSE170, KYSE180, KYSE270 を使用した。臨床標本は 2005 年 1 月から 2009 年 1 月の間に当科で手術を受けた 104 名の食道癌患者の摘出標本の一部を使用した。

食道扁平上皮癌細胞株に対し siRNA を導入し CYHR1 の mRNA 発現を抑制した。CYHR1 の発現を抑制した TE-8, GFP を移入した TE-8 を用いて、増殖能の検討として 24well のプレートに細胞をまき、24 時間毎に 1well ずつの細胞数の計測を行った。また BD BioCoat Matrigel invasion chambers を用いて浸潤能を調べた。

マウスに TE-8 を皮下に移植し、1 週間ごとに形成した腫瘍に対し siRNA 及び GFP を導入し腫瘍の size を計測した。臨床標本における CYHR1 の発現を計測し、臨床病理学的予後との関連を調べた。

【結 果】

- 1) 食道扁平上皮癌細胞株において、すべての細胞株で CYHR1 は発現しており、TE-8 でより強く発現していた。
- 2) CYHR1 の発現が強い TE-8 に対して、siRNA を導入することにより、GFP を導入した TE-8 に比べ CYHR1 の発現が抑制された。
- 3) siRNA を導入した TE-8 と GFP を導入した TE-8 で増殖能を比較すると、CYHR1 の発現を抑制した TE-8 において有意に増殖能が抑制され、また同様に浸潤能も抑制された。
- 4) CYHR1 の発現を抑制する異なる siRNA を導入した TE-8、KYSE270 でも同様に CYHR1 の発現は抑制され、浸潤能、増殖能は抑制された。
- 5) ノードマウスに TE-8 を皮下移植し、形成された腫瘍に対し 1 週間毎に siRNA 及び GFP の導入したところ、siRNA を導入したマウスでは劇的に腫瘍の size が抑制された。
- 6) 臨床研究では CYHR1 の発現はリンパ節転移やステージと関係しており、独立した予後因子であることが示された。

【結論及び考察】

CYHR1 遺伝子はマウスの galectin-3 を bait とする two-hybrid screen で、マウスの 3T3cDNA library で発見された。蛋白構造では N 末端に豊富な cystein と histidine をもち、CYHR1 蛋白と呼ばれている。これまで、構造、分布、蛋白の反応の報告があり、最近では分裂の際の RNA プロセッシングに重要な役割をもつことが報告されている。構造上 BIRs や RING-zinc finger のような哺乳類のアポトーシスの抑制物質には cysteine/histidine-rich なモチーフをもつためとしてアポトーシスの調節に関係している可能性も示唆される。

GSEA(the gene set enrichment analysis)にて CYHR1 の機能を評価したところ、CYHR1 の mRNA の発現にはアポトーシス関連遺伝子と負の相関があり、MYC のターゲットする遺伝子と正の相関があることから CYHR1 はアポトーシスを抑制し、発癌遺伝子を活性化することにより食道癌細胞の増殖能を活性化することが示唆される。本研究では CYHR1 の発現を抑制することによって、食道癌細胞の増殖能及び浸潤能を抑制しており、in vivo の実験では腫瘍形成も抑制している。これらの結果から CYHR1 の発現を抑制することが、食道扁平上皮細胞癌で治療方法の一つとなることが示される。

臨床研究では、CYHR1 の発現はリンパ節転移、ステージ、予後と関係しており独立した予後因子であることが示されている。加えて TCGA のデータでも、CYHR1 が高発現している群では予後不良であった。CYHR1 は食道扁平上皮癌患者において予後因子だけではなく、治療標的にもなりえることが示唆された。