

C4orf47 contributes to the dormancy of pancreatic cancer under hypoxic conditions

長尾, 晋次郎

<https://hdl.handle.net/2324/6796060>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : Creative Commons Attribution 4.0 International

氏名： 長尾 晋次郎

論文名： C4orf47 contributes to the dormancy of pancreatic cancer under hypoxic conditions

(C4orf47 は低酸素状態における膵癌の休眠に関与する)

区分： 甲

論文内容の要旨

【緒言】米国では、2021年に約60430人の膵癌の新規診断が予測されている。発症率は年間0.5%~1.0%で増加しており、米国では2030年までに膵癌ががん死亡原因の第2位になると予測されている。膵臓新生物の大部分(90%)は膵管腺癌(PDAC)であり、その他のサブタイプには腺癌、膵臓芽細胞腫、神経内分泌腫瘍が含まれる。難治の原因として、早期診断が困難であり根治手術が難しい症例が多いことや、長期的に有効な治療薬が存在しないことが考えられる。従って、膵癌病態の解析や有効な新規治療法開発は喫緊の課題である。

膵管腺癌の特徴は高度の低酸素状態であるといえる。低酸素環境は近年、癌微小環境の一つとして注目されてきた。通常、我々の組織は1%O₂の状態にあり、癌組織では0.1% O₂の状態にあるとされ、癌組織では極めて低酸素な状況となっている。従ってそのような低酸素状態では様々な分子やシグナル系が発現亢進したり、活性化したりして通常とは異なった微小環境が構築され、低酸素環境という細胞にとって不利な環境での生存や悪性形質の誘導に寄与している可能性が考えられる。

これまで、我々は低酸素条件下の膵癌において、leucocyte antigen related protein tyrosine phosphatase-interacting protein (liprin)-a4, master-mind like 3 (MAML3)、recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region (RBPL) および family with sequence similarity 115, member C (FAM115C) の発現が亢進することを報告した。Liprin-4, MAML3, RBPJ は膵癌の増殖、遊走、浸潤に寄与していた。FAM115Cは膵癌の浸潤抑制に関与しており、予後良好なバイオマーカーとなりうることが示唆された。このように低酸素下で発現が亢進する分子は、膵癌において各分子特有の生物学的意義を持っていた。

我々は膵癌において低酸素環境で発現亢進する分子として今回新たにChromosome 4 open reading frame 47 (C4orf47)を見出した。C4orf47に関する報告はこれまでに中心体関連蛋白の一つであるとする報告のみで、正常細胞においても詳細な生物学的役割の報告はなく、癌においては全く不明である。我々は、これまでの研究成果から、C4orf47が膵癌の低酸素状態において重要な役割を持っていると考えた。従って本研究では、膵癌の病態解析と新規治療法開発のために膵癌におけるC4orf47の生物学的意義解析を行うこととした。

【目的】膵癌における新規遺伝子C4orf47の生物学的意義を解析し、膵癌治療開発のための膵癌病態解析を行う。

【材料と方法】1)C4orf47がHIF-1 α のdirect target geneであるかを検証するため、C4orf47 promoter領域でhypoxia responsive elementを同定してデュアルルシフェラーゼアッセイを行った。2)遺伝子抑制はsi-RNA導入で行った。3)増殖はMTT法で、遊走・浸潤はマトリゲル浸潤試験で評価した。4)細胞周期解析はFACSで、蛋白発現はwestern blot法、免疫染色法で行った。5)微小管の脱重合を阻害することが作用機序であるPTXを用いて抗癌剤感受性を評価した。6)THE HUMAN PROTEIN ATLASを用いてC4orf47発現と全生存との相関を解析した。7)低酸素環境は1%酸素環境とした。

【結果】 1) C4orf47 は低酸素環境で発現が亢進した。2) デュアルルシフェラーゼアッセイにより、HIF-1a が direct に C4orf47 発現に関与することが示唆された。3) C4orf47 の抑制により膵癌細胞株の増殖能は有意に亢進し、遊走能、浸潤能は有意に低下し、細胞周期解析では G0/G1 期の低下が認められた。4) C4orf47 の抑制により c-Myc、pERK の発現が上昇した。さらに E-cadherin の発現上昇、Vimentin、snail、slug の発現低下を認めた。5) C4orf47 の抑制により細胞周期抑制因子である Fbxw-7、P27、p57 の発現低下、細胞周期の促進因子 c-myc、cyclinD1、cyclinC の発現亢進、及び CD44 の発現低下を認めた。6) C4orf47 抑制による PTX の薬剤感受性は正常酸素環境では変化認めなかったが、低酸素環境下では薬剤感受性の亢進を認めた。7) Stage I に限局した場合、C4orf47 高発現群が有意に予後良好であった。

【考察】 膵癌において C4orf47 は、HIF-1a の direct target gene として低酸素環境で発現亢進した。C4orf47 は細胞周期の抑制因子 Fbxw-7、P27、p57 の発現亢進、細胞周期の促進因子 c-myc、cyclinD1、cyclinC の発現低下を介して G0/G1 アレストを誘導することで細胞増殖を抑制した。C4orf47 は EMT および CD44 発現亢進により細胞可塑性を誘導し浸潤能を亢進した。これら結果より、C4orf47 が低酸素環境で膵癌における休眠に関与すると考えた。さらに、C4orf47 発現の予後良好バイオマーカーとしての可能性も見出した。

【結語】 本成果は難治性膵がんの癌病態の解明や新規治療法の開発に寄与することが期待される。