

論 文 内 容 要 旨

題 目

Prognostic value of partial EMT-related genes in head and neck squamous cell carcinoma by a bioinformatic analysis

(部分的上皮間葉転換関連遺伝子による頭頸部扁平上皮癌の予後予測)

著 者

木曾田 暁

内容要旨

上皮間葉転換(Epithelial-to-Mesenchymal Transition; EMT)とは、上皮細胞が上皮としての性質であるE-カドヘリンを介した細胞接着性を失っていき、間葉系細胞の性質である浸潤性や遊走性を獲得していく現象であり、初期胚や組織の形成、創傷治癒などに深く関係している。また、癌細胞におけるEMTは、浸潤、転移、治療抵抗性の獲得といった癌の悪性進展との関わりが報告されている。

近年の研究によって、EMTはスペクトラムのように徐々に進行していく遷移過程であり、EMTの中間段階においてエネルギー的に準安定を示す状態が存在することが明らかとなった。この中間段階を部分的上皮間葉転換(partial-Epithelial-to-Mesenchymal Transition; p-EMT)と呼ぶ。p-EMT状態の細胞は形態や遺伝子発現の面で上皮と間葉の中間的な性質を示すほか、上皮性や間葉性の細胞と比較してエネルギー的に不安定であるため、容易に別の状態へと移行する。*in vivo*実験において、完全なEMT状態の癌細胞と比較し、p-EMT状態の癌細胞は高い遊走能、転移能、治療抵抗性といった悪性形質を示すことが明らかとなり、癌の悪性進展にp-EMT状態の癌細胞が重要な役割を果たしていると考えられる。

我々は、Puramらが頭頸部扁平上皮癌の一細胞RNAシーケンスによって同定したp-EMTシグネチャー遺伝子に対して、頭頸部扁平上皮癌症例の生存分析を行い、これらの遺伝子が患者の予後に影響しているかを検討した。また、シグネチャー遺伝子と頭頸部扁平上皮癌細胞株の浸潤能の関係を評価した。本研究では、p-EMTシグネチャー遺伝子として、Puramらが報告したp-EMT状態の癌細胞において高いmRNA発現を示す25種類の細胞外マトリックス関連遺伝子を用いた。

まず、The Cancer Genome Atlas (TCGA)データベースから頭頸部扁平上皮癌519症例のRNAシーケンスデータおよび臨床データを取得し、p-EMTシグネチャー遺伝子の発現レベルを検討した。正常組織と比較し腫瘍組織において有意に発現が高い遺伝子を解析候補遺伝子として選別した。その後、症例をp-EMTシグネチャー遺伝子のmRNA発現レベルをもとに“High”および“Low”の2群に分け、ログランク検定によって2群の生存時間を比較した。生存時間に有意に影響する6つの遺伝子、*SERPINE1*, *ITGA5*, *TGFBI*, *P4HA2*, *CDH13*, *LAMC2* を予後予測マーカー遺伝子として同定した。これらの遺伝子発現レベルの高い症例は有意に予後不良であった。

続いて、8種類の頭頸部扁平上皮癌細胞株(HSC2, HSC3, HSC4, HOC313, HOC621, HOC719PE, HOC719NE, MSCC-inv1)におけるp-EMT関連遺伝子、上皮性分化関連遺伝子、EMT関連遺伝子の発現レベルをリアルタイムPCRによって評価し、各細胞株のEMT進行状態を検討した。このうち、上皮性分化関連遺伝子の発現レベルの高いHSC2, HSC4, HOC621は上皮系フェノタイプとして分類した。それに対し、p-EMT関連遺伝子およびEMT関連遺伝子の発現レベルが高く上皮分化関連遺伝子の発現が低いHOC719NE, HOC313は間葉系フェノタイプに分類した。間葉系の細胞株は、ともにE-カドヘリン欠損株であった。また、p-EMT関連遺伝子、EMT関連遺伝子、上皮分化関連遺伝子のいずれも高く発現するHOC719PE, HSC3, MSCC-inv1は、上皮性と間葉系の中間性質を示すものとしてp-EMTフェノタイプに分類した。

また、頭頸部扁平上皮癌細胞株MSCC-inv1は、MSCC-1株のinvasion assayにおいて高い浸潤能を示す細胞を分離して樹立した細胞株である。MSCC-inv1とMSCC-1のEMT進行状態を比較したところ、MSCC-1は上皮系フェノタイプ、MSCC-inv1はp-EMTフェノタイプを示した。この結果は、p-EMTが高浸潤性に関与することを示唆している。

本研究により、p-EMTが頭頸部扁平上皮癌の予後不良および癌細胞の高浸潤性に関与していることが示唆された。本研究で同定した予後予測マーカーは予後診断・治療選択に応用できる可能性がある。また、今回同定したp-EMT状態を示す頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いてp-EMT状態の維持機構に関する研究を進めていきたいと考えている。