

学位論文審査結果の要旨

氏名	浅井 聖史
審査委員	主査 薬師神 芳洋 副査 今井 祐記 副査 藤岡 徹 副査 江口 真理子 副査 東 太地

論文名

ECHDC1 のノックダウンはゲムシタビン耐性膀胱癌細胞の増殖を抑制する

審査結果の要旨

【背景・目的】

ゲムシタビンとシスプラチンの2剤併用化学療法（GC療法）は、進行期膀胱癌の標準治療の一つである。近年このGC療法は、進行期症例のみならず、浸潤性膀胱癌に対する術前補助化学療法（ネオアジュバント療法）として施行される機会も増えている。愛媛大学泌尿器科では、2004年より進行期膀胱癌に対するGC療法の臨床試験を開始し、その奏効率は44%と良好であるものの、GC療法無効例も多く経験している。また、一時的な奏効の後、多くの症例は根治することなく再び癌の進行がみられ死に至る。このようなGC療法耐性の要因の1つにゲムシタビン耐性が挙げられるが、現在のところゲムシタビン耐性に関与するバイオマーカーやこの耐性に対応する薬剤は無い。申請者は、プロテオーム解析により膀胱がんにおけるゲムシタビン耐性に関わるタンパクを新規に同定することを目的とし本研究を行った。

【方法】

ゲムシタビンに感受性のある2種類の膀胱癌細胞株（UMUC3、HT1376）から2種類のゲムシタビン耐性細胞株（UMUC3GR、HT1376GR）を作製した。これら4種類の細胞株についてiTRAQを使用したプロテオーム解析を施行し、発現しているタンパクを定量比較した。更に、ゲムシタビン耐性株に有意に発現するタンパクを抽出し、siRNA法を用いてタンパク発現を抑制する

ことで、抽出タンパクの細胞増殖における機能を検討した。

【結果】

プロテオーム解析により、2種類のゲムシタビン耐性株に共通し発現が増加するタンパクを32種類同定した。この中で、唯一 Ethylmalonyl-CoA decarboxylase (ECHDC1) がゲムシタビン耐性株で有意に増加することを見いだした。また、ウェスタンブロット法においても、ECHDC1 がゲムシタビン耐性株で増加していることを確認した。更に、ゲムシタビン耐性株 (U MUC3GR) において、ECHDC1 を siRNA で silencing することにより、腫瘍細胞の増殖能が抑制された。フローサイトメトリーを用いた細胞周期の検討では、ECHDC1 抑制腫瘍細胞株において G0/G1 期の細胞の割合が増加しており、G1 停止の状態と考えられた。

【考察】

ECHDC1 は、エチルマロニル CoA デカルボキシラーゼとして 2011 年に初めて報告された、代謝産物の校正に機能する酵素である。脂肪酸代謝において、アセチル CoA カルボキシラーゼはアセチル CoA に作用するだけではなく、ブチリル CoA にも作用する。この為、異常なエチルマロニル CoA が合成され脂質合成に乱れが生じると考えられている。ECHDC1 は、このエチルマロニル CoA を再びブチリル CoA に変換する酵素であることが過去に報告されている。別の検討では、ECHDC1 の抑制によりエチルマロニル CoA だけではなく、酸化ストレスを誘導するエチルマロン酸を増加させるとの報告もある。申請者の本検討は、ゲムシタビン耐性株から ECHDC1 を同定し、ECHDC1 の抑制により膀胱癌の細胞増殖が抑制されることを明らかにした初めての報告である。過去の脂質代謝に関する ECHDC1 の報告などから、膀胱癌の薬剤感受性や増殖には、脂肪酸や脂質の代謝異常が関与している可能性がある。

【結論】

ゲムシタビン耐性膀胱癌細胞から ECHDC1 を初めて同定した。ECHDC1 は細胞増殖に関与し、ゲムシタビン耐性膀胱癌の治療標的となる可能性がある。

審査会は平成 28 年 12 月 27 日に開催され、申請者の英語発表の後に質疑応答がなされた。

各審査委員からは、本研究の実験手法に関する基本的な質問、即ち、siRNA による ECHDC1 発現抑制実験でのコントロール置き方、iTRAQ を使用したプロテオーム解析における統計解析の手法、また臨床検体や組織型の相違によるこの ECHDC1 タンパクの発現の違い、等が質問された。更に、本論文内容に踏み込み、ゲムシタビン耐性と細胞周期との関連（特に siRNA を抑制した細胞株が薬剤感受性を再度獲得するかどうか?）、ゲムシタビン投与により ECHDC1 が誘導される機序に関する考察（gene mutation や epigenetics の関与）や、最も興味のある問題として薬剤耐性と脂質代謝との関連、等が質問された。最後に、検討を今後の診療につなげるために申請者が考える内容が問われ、申請者は明確に返答した。

申請者は各質問に的確に返答し、本論文関連領域に関して学位授与に値する十分な見識と能力があることを審査員全員一致で確認した。