

美馬 浩介 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

TGF- β シグナルを介した肝細胞癌の上皮間葉転換における CD44 の機能解析 (The role of CD44 in the TGF- β -mediated mesenchymal phenotype in hepatocellular carcinoma)

CD44 はヒアルロン酸を主なリガンドとする接着分子であり、選択的スプライシングにより CD44 standard isoform (CD44s)の他に、複数の CD44 variant isoform (CD44v)が存在する。また CD44 は癌幹細胞マーカーの一つでもある。Epithelial-mesenchymal transition (EMT)は、上皮細胞が間葉系細胞に形質変化する現象で、癌細胞の浸潤・転移において重要な役割を果たしていると考えられている。本研究は肝細胞癌の EMT における CD44 の機能と、その臨床的意義の解明を目的として行われた。

まず肝細胞癌細胞株において、細胞の EMT の指標となる細胞表面分子の発現を解析したところ、CD44s が高発現しており、CD44s の発現は E-cadherin の低発現および vimentin の高発現と関連していた。CD44s 低発現細胞株 PLC/PRF/5 に CD44s を過剰発現させると、vimentin の発現増加、*in vitro* 浸潤能の亢進が観察された。逆に CD44s 高発現細胞株 HLF において、siRNA を用いて CD44 の発現を抑制すると vimentin の発現低下と *in vitro* 浸潤能の減少が観察された。肝細胞癌細胞株 PLC/PRF/5 の培養液に TGF- β 1 を添加すると、EMT が誘導され CD44s の発現が増加した。肝細胞癌細胞株 HLF において、siRNA を用いて CD44 の発現を抑制した後に培養液に TGF- β 1 を添加したところ、TGF- β シグナルを介した vimentin の発現増加と細胞浸潤能の亢進が抑制された。肝細胞癌の初回肝切除術を受けた 150 例において、癌組織における CD44s 高発現は E-cadherin の低発現、vimentin の高発現、リン酸化 Smad 2 の核内局在と関連していた。さらに CD44s 高発現症例では、低発現症例と比較して切除術後の無再発生存率および全生存率が有意に不良であった。また CD44s の高発現は、局所凝固療法後の門脈内播種性再発とも関連していた。

審査では、1) 肝細胞癌における浸潤、転移および再発の定義、2) 多発肝細胞癌の性格、3) 癌細胞株表面に発現する CD44s の Flow cytometry 解析と分子の機能、4) 癌細胞株の浸潤能解析における走化因子、5) 癌細胞株の免疫不全マウスにおける増殖解析、6) 正常肝細胞における CD44s の発現の有無、7) 肝細胞癌組織における CD44v の発現状態、8) 原発病巣と再発・転移病巣における CD44s の発現の差、9) 肝細胞癌の EMT における TGF β の供給源、10) TGF β , CD44, vimentin などの発現制御における分子間の相互作用、などについて質疑がなされ、申請者よりの確かな回答がなされた。

本研究は肝細胞癌において CD44s が、TGF- β シグナルを介した EMT に重要な役割を果たしていること示し、その臨床経過に及ぼす影響を解析した研究として、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 免疫識別学担当教授

西村 泰治