

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(東 陽 子) 印

(学位論文のタイトル)

SIRT6 expression is associated with poor prognosis and chemosensitivity in patients with non-small cell lung cancer.

(非小細胞肺癌におけるSIRT6発現は予後不良と抗癌剤感受性に関連する)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

【背景】

非小細胞肺癌における抗癌剤抵抗性は、その治療において克服すべき重要な問題であり、新たな治療標的・抗癌剤抵抗性克服ツールが求められている。Sirtuin6 (SIRT6)は、ヒストン脱アセチル化を介して様々な遺伝子発現を制御し、正常細胞の老化や代謝を調節する重要な蛋白である。一方、癌細胞における機能については一定の見解が得られておらず、癌種によって腫瘍抑制・癌進行・抗癌剤抵抗性との関連が報告されている。肺癌においては、in vivo実験で腫瘍抑制因子としての可能性が示唆されているが、臨床検体におけるSIRT6発現の臨床的意義・機能は明らかとなっていない。本検討では、非小細胞肺癌におけるSIRT6発現の臨床病理学的意義と抗癌剤感受性との関連について検討した。

【対象と方法】

- ① 1999年～2006年に当院で外科的切除を行った98例の非小細胞肺癌症例を対象とし、免疫染色法にてSIRT6の発現強度を評価し臨床病理学的因子および予後との関連について検証した。
 - <患者背景>

男性 65例/女性 33例、手術時平均年齢 65歳、有喫煙歴 65例、腺癌 81例/扁平上皮癌 17例、病理病期 I期 57例/II期 9例/III期 29例/IV期 3例、術後療法として 化学療法施行 48例/放射線照射施行 8例
 - <免疫染色評価法> 評価は2人の評価者が独立して行った。
 - 低発現群：発現なし/弱染色/強染色の腫瘍細胞が20%未満
 - 高発現群：強染色の腫瘍細胞が20%以上
- ② In vitroでの検証
 - <使用細胞株>

ヒト肺腺癌細胞株：A549・H1975・H2009 ヒト肺扁平上皮癌細胞株：EBC-1・RERF-LC-AI
 - <機能解析> small interfering RNAを用いたSIRT6抑制試験
 - ・water-soluble tetrazolium-8 assayを用いて細胞増殖能およびPaclitaxel感受性を検証
 - ・Western Blot法を用いSIRT6・NFκB・BCL2(抗アポトーシスマーカー)・Beclin1(オートファジーマーカー)蛋白発現を検証

【結果】

- ① 臨床検体におけるSIRT6発現と予後との関連

SIRT6は細胞質でより優位に発現しており、非癌部と比較して癌部で高発現であった。SIRT6の細胞質および核での発現強度をそれぞれ評価したところ、55例(56.1%)がSIRT6細胞質高発現群、28例(28.5%)がSIRT6核高発現群に分類された。細胞質高発現群は細胞質低発現群と比較して有意に予後不良であったのに対し、核高発現群は核低発現より有意に予後良好であった。

た。細胞質および核の発現強度を組み合わせると、33例(33.6%)が細胞質高発現/核低発現群に分類された。同群はその他の群と比較して全生存期間および無再発生存期間ともに有意に予後不良で、扁平上皮がん症例に多く、病理病期進行度と相関していた。また、多変量解析において、SIRT6細胞質高発現/核低発現は全生存率に対する独立予後不良因子となった。

② 各細胞株の蛋白発現

肺腺癌細胞株ではA549のみ、肺扁平上皮癌細胞株では2種ともにSIRT6高発現であった。A549ではNFkB・Beclin1も高発現であったが、肺扁平上皮癌細胞株では発現が見られなかった。

③ SIRT6抑制試験

SIRT6高発現であるA549・EBC-1を用いてSIRT6抑制試験を行った。

A549では、SIRT6抑制とともにNFkB・Beclin1の発現が低下したが、EBC-1では両蛋白の発現に変化を認めなかった。BCL2については、両細胞株ともに発現変化を認めなかった。

増殖能試験については、A549・EBC-1ともにSIRT6抑制による変化を認めなかった。

paclitaxel感受性試験については、A549のSIRT6抑制細胞株でpaclitaxel感受性が向上した。

EBC-1では感受性の変化を認めなかった。

④ 術後化学療法施行症例におけるSIRT6発現と予後

In vitroでの結果を受けて、術後補助化学療法または再発に対する化学療法を施行された48例(48.9%)の全生存率について解析した。SIRT6細胞質高発現/核低発現群は他群と比較して有意に予後不良であった。

【考察】

① SIRT6の細胞内局在の意義

核に局在するSIRT6はヒストン脱アセチル化活性によって抗癌剤抵抗性や癌代謝に関与するHif1 α やNFkBの転写を抑制するとされている。一方、細胞周期S期においてSIRT6は細胞質の紡錘糸と多く共存しており細胞周期制御への関連も示唆されている。本検討において、SIRT6の細胞内局在は癌進行や術後化学療法施行症例における予後不良と相関しており、免疫染色によるSIRT6の細胞内局在の評価が抗癌剤感受性および細胞周期亢進の有用なマーカーとなる可能性がある。

② SIRT6の組織型による発現の違い

本検討では、SIRT6細胞質高発現群は扁平上皮癌症例に多くみられ、扁平上皮癌細胞株においてもSIRT6は高発現であった。SIRT6は19p13.3に位置しており、肺腺癌症例では同部の欠失、肺扁平上皮癌症例ではコピー数増加が高率に認められると報告されている。以上より、組織型によるSIRT6発現強度や機能の違いはゲノム異常が一因となっている可能性がある。

③ SIRT6と抗癌剤感受性

SIRT6はBCL2発現を介し抗癌剤感受性を制御するとの報告があるが、本検討ではSIRT6とBCL2発現に相関を認めなかった。そこで、抗癌剤抵抗性の主要なメカニズムとされるオートファジーとSIRT6の関連を検証する事とした。SIRT6はmTORシグナル抑制を介してオートファジーを活性化し、オートファジーはNFkBシグナルを活性化すると報告されている。本検討では、SIRT6抑制肺腺癌細胞株においてBeclin1およびNFkB発現が低下し、Paclitaxel感受性が向上した。以上より、SIRT6が肺腺癌においてオートファジーを介した抗癌剤抵抗性を制御している可能性が示唆された。肺扁平上皮癌との関連は本検討で見解が得られず、組織型によるメカニズムの違いについては今後の検討が必要である。

【結語】

非小細胞肺癌におけるSIRT6発現および細胞内局在は、予後予測および抗癌剤感受性マーカーとして有用と思われる。また、SIRT6は肺腺癌におけるオートファジーを介したpaclitaxel抵抗性に対する新規治療標的として期待される。