

論文の内容の要旨

氏名：山口 裕美

博士の専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Transglutaminase 2 is upregulated in primary hepatocellular carcinoma with early recurrence as determined by proteomic profiles

(プロテオミクス解析で明らかとなった早期再発する初発肝細胞癌におけるトランスグルタミナーゼ 2 の発現亢進)

背景：肝細胞癌は再発頻度が高く、予後の悪い癌である。肝切除後、長期に亘って再発しない症例が存在する一方で、一年以内に早期再発する症例もある。そこで本研究では、早期再発しやすい癌のタンパク質発現プロファイルを明らかにする目的で、ヒト肝細胞癌検体を用いた蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動 (2D-DIGE) 解析を行った。

材料と方法：外科的に切除された C 型肝炎ウイルス陽性の初発・単発肝細胞癌を対象とし、1 年以内に再発した 11 症例を再発早期群、4 年以上再発をみなかった 10 症例を再発遅延群とした。これらの 21 症例の肝細胞癌組織よりタンパク質抽出を行い、2D-DIGE を実施した。再発早期群と遅延群のタンパク質スポット発現量を比較した後、差のあったスポットの同定を行った。見出された再発関連マーカー候補タンパク質と関連分子のタンパク質発現検証にはウェスタンブロット (WB) 法、免疫染色法を用い、mRNA 発現定量はリアルタイム PCR で行った。

結果：2D-DIGE で、肝細胞癌組織から 1623 個のタンパク質スポットが検出された。再発早期群と遅延群とで発現量の異なるタンパク質スポットは 51 個存在し、うち 19 個を同定した。その内の一つ、トランスグルタミナーゼ 2 (TGM2) は再発早期群で 1.6 倍高い発現を示し、WB 法でも同様の傾向であった。免疫染色の結果、TGM2 は主にかん間質近傍の癌細胞に発現がみられ、再発早期群ではそのような TGM2 陽性肝癌細胞が有意に増加していた。

TGM2 は、インテグリンシグナル (図) 及び上皮間葉転換 (EMT) シグナル(図)を活性化することで癌の悪化に寄与することが知られている。そこで、TGM2 を介したこれらのシグナルが、肝細胞癌早期再発に関与するかを検討した。インテグリンシグナルの下流に見られる FAK や Akt のリン酸化亢進及び PTEN タンパク質の減少は、WB 法では観察されなかった。一方、EMT 関連分子である *TGFBI*, *HIF1A*, *SNAI1* の mRNA は *TGM2* の発現量と相関して増えていた。しかし EMT で発現低下する *CDH1* も、逆に増えていた。免疫染色からも、TGM2 陽性細胞が必ずしも CDH1 陰性とはならなかった。

考察：本研究では、ヒト肝細胞癌組織で初めて、TGM2 発現亢進が早期再発と関連することを示した。その組織内発現様式から、繊維性間質との相互作用が予想された。組織全体の分子解析では、既知のインテグリンシグナルや EMT シグナルとの関連は見られなかったが、局所での解析の重要性が示唆された。*TGM2* の発現は *TGFBI* や *HIF1A* と正相関を示し、タンパク質レベルでも正のフィードバック機構が知られている。TGM2 の活性化は、これらを通してがん間質細胞にも働きかけ相互作用することで、癌細胞の生存・転移に有利な微小環境を作り出している可能性がある (図)。また、本研究より TGM2 の肝細胞癌再発マーカーとしての有用性が示された。

