

論 文 要 旨

Specific Smad2/3 linker phosphorylation indicates esophageal non-neoplastic and neoplastic stem-like cells and neoplastic development

(リンカー部スレオニンリン酸化 Smad2/3 蛋白発現による食道上皮幹細胞、腫瘍幹細胞の同定と食道腫瘍発生進展メカニズムの解析)

関西医科大学内科学第三講座
(指導：岡崎 和一 教授)

堀 谷 俊 介

【はじめに】

ヒト食道組織における幹細胞研究については、その臨床的重要性にもかかわらず、明確に解明されていないのが現状である。さらに、食道癌の発生と進展メカニズムについても未だ不明な点が多い。Cancer stem cell(CSC)は、自己複製能や多分化能を持ち、その上で高い浸潤能と化学療法や放射線療法への治療抵抗性を有している。このような CSC の特性が、腫瘍発生に関与し進展につながると考えられている。CSC が様々な腫瘍に存在することを示す研究結果が増えている中、食道腫瘍における CSC の同定と特徴付けは未だ解明されていない。我々は、これまでマウス食道上皮において幹細胞様形質を示すリンカー部スレオニンがリン酸化された Smad2/3 蛋白を認識する抗体(pSmad2/3L-Thr)を用いて pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の発現を同定してきた。さらに、食道炎モデルマウスにおいて pSmad2/3L-Thr 陽性細胞がコントロール群と比較し有意に増加したことを示した。その後、腸炎関連大腸癌モデルマウスにおいて腫瘍細胞内に pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の発現を確認し、これらの細胞が CSC となりうる可能性があることを示唆してきた。本研究では、食道腫瘍内視鏡切除後標本を用いて、pSmad2/3L-Thr の発現を確認し、ヒト食道上皮幹細胞、腫瘍幹細胞の同定と食道腫瘍発生進展メカニズムを解析した。

【研究方法】

食道腫瘍に対し内視鏡的粘膜下層剥離術を受けた患者の組織を用いて検討を行った。内訳は 23 症例のうち、low-grade intraepithelial neoplasia(LG-IN)が 10 病変、high-grade intraepithelial neoplasia(HG-IN)が 11 病変、carcinoma in situ(CIS)が 12 病変、invasive squamous cell carcinoma(SCC)が 12 病変であった。pSmad2/3L-Thr と Ki67、CDK4、p63、CK14、p53、ALDH1、CD44、D2-40 による蛍光二重免疫染色を行い、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の持つ性質および腫瘍細胞中の発現率および発現部位等の検討を行った。蛍光免疫染色後、同切片に対しヘマトキシリン・エオジン染色を追加し、これらの細胞を光学顕微鏡で観察した。

【結果】

食道上皮の非腫瘍部において、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は、基底層と傍基底層に発現し、CDK4、p63、CD44 と免疫組織化学的に両陽性を示した。また食道腫瘍部において、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は、p53、CDK4、ALDH1、CD44 と両陽性を示した。さらに、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は、非腫瘍部および腫瘍部ともに Ki67 陰性および陽性の両方の細胞を認めていた。また、p53 陽性腫瘍細胞中における pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の割合が腫瘍進展に伴い増加する結果を示した。さらに、LG-IN、CIS、invasive SCC において pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の腫瘍細胞内における局在を検討した結果、LG-IN から CIS に至るまでは腫瘍進展に伴い食道上皮の下から上へと発現部位は変化し、invasive SCC の状態まで達すると、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は腫瘍内全体に散見され、極性は消失していた。また、pSmad2/3L-Thr 陽性細胞は、腫瘍の主病変部だけでなく、粘膜下層浸潤部や血管・リンパ管浸潤

部でも観察された。

【考察】

我々はこれまでマウス実験にて同定してきた pSmad2/3L-Thr 陽性細胞をヒト食道組織における非腫瘍部および腫瘍部の両方で同定し、幹細胞様形質を示す細胞であることを確認した。さらに腫瘍細胞中の pSmad2/3L-Thr 陽性細胞の割合が高い症例ほど、腫瘍の広がりや脈管侵襲、転移を認める確率等の悪性の指標が高いことを確認した。これは pSmad2/3L-Thr 陽性細胞が腫瘍増殖・形成能を有する CSC である可能性を示唆し、CSC マーカーの発現が高い腫瘍ほど予後が悪く、腫瘍進展度が高いというこれまでの報告に合致する結果であった。さらに、一般的に抗がん剤や放射線などの治療に抵抗性を示すとされる CSC は、腫瘍の浸潤、転移においても中心的な役割を担う細胞とされている。invasive SCC の粘膜下層浸潤部や脈管侵襲部においても pSmad2/3L-Thr 陽性細胞を認め、腫瘍浸潤・転移に影響を及ぼしていると考えられた。我々は、抗 pSmad2/3L-Thr 抗体を用いてヒト食道上皮幹細胞、腫瘍幹細胞の同定と食道腫瘍発生進展メカニズムを解析した。本実験からの更なる解析が、食道腫瘍の新規治療法や疾患の予防の確立等につながることを期待する。