

# 論文内容要旨

NRD1, which encodes nardilysin protein,  
promotes esophageal cancer cell invasion through  
induction of MMP2 and MMP3 expression.

(nardilysin をコードする NRD1 は、MMP2 および  
MMP3 を介して食道がんの浸潤を促進させる)

Cancer Science, in press.

主指導教員：安井 弥教授  
(基礎生命科学部門 分子病理学)  
副指導教員：酒井 規雄教授  
(基礎生命科学部門 神経薬理学)  
副指導教員：大上 直秀教授  
(基礎生命科学部門 分子病理学)

浦岡 直礼

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

食道扁平上皮癌は発生頻度が高い悪性腫瘍であり、また診断時には進行期に至っている症例が多く、予後不良な悪性腫瘍の一つである。これまでに様々な解析が行われているが、特異的な診断マーカーや治療標的分子はまだ同定されておらず、それらの発見が急務とされている。Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)法は、網羅的遺伝子発現解析の一つであり、定量性・再現性に優れ、新規癌関連遺伝子の同定に有用な方法である。我々は外科的に切除された食道扁平上皮癌を材料に新規 SAGE ライブラリーを構築し、NCBI のデータベースである SAGEmap 上に登録されていた正常食道粘膜の SAGE データを加えた計 64938 タグ、20600 種類の転写産物に関して解析を行った。本研究では正常食道と比較して、食道扁平上皮癌で発現が亢進している遺伝子の中から、nardylisin をコードする NRD1 に関して解析した。NRD1 は塩基性アミノ酸 Arg-Lys をアルギニン残基の N 末端で選択的に切断するメタロエンドペプチダーゼであり、機能としては TACE や ADAM10 を介した TNF- $\alpha$  の外部ドメイン shedding に関与することなどが報告されている。また、乳癌においては腫瘍径、グレード、リンパ節の転移陽性率と相関するという報告があるが、予後との相関に関しては報告がない。

まず、定量的 RT-PCR を用いて種々の正常臓器における NRD1 の発現レベルを検討したところ、過去の報告と合致して骨格筋において高い発現が見られ、食道を含む他の臓器ではいずれも発現は低レベルであった。食道癌組織を用いた検討では 4 例中 3 例で mRNA レベル、蛋白レベルともに、非癌部と比較して癌部で高い発現が認められた。免疫組織学的検討では、NRD1 の発現が報告されている骨格筋において細胞質に陽性像が認められた。非癌部食道粘膜では NRD1 はほとんど発現がなかったのに対し、食道癌組織では 109 例中 43 例 (39%) において、腫瘍細胞の細胞質に NRD1 の高発現が認められた。NRD1 の発現と臨床病理学的因子との相関では、NRD1 の発現は腫瘍の T grade ( $p = 0.0007$ )、N grade ( $p = 0.0164$ )、Stage ( $p < 0.0001$ ) の進行と有意な相関が見られた。予後との相関について、アジュバント療法もしくはネオアジュバント療法を施行されていない 58 例において検討したところ、腫瘍部で NRD1 を発現している症例は有意に予後不良であった ( $p = 0.0258$ )。単変量解析および多変量解析では、いずれも Stage に有意な相関が見られ、NRD1 は独立した予後不良因子であることが示された。

次に、食道癌細胞株 TE1、TE5 において siRNA を用いて NRD1 をノックダウンしたところ、negative control と比較して浸潤能の低下が見られた。NRD1 による浸潤能低下のメカニズムを明らかにするため、食道癌の浸潤への関与が既に知られている matrix metalloproteinase (MMP) family に着目した。定量的 RT-PCR を用いて MMP family の発現量を検討したところ、NRD1 をノックダウンした食道癌細胞株では、negative control と比較して MMP2、MMP3 の発現が有意に減弱していた。

以上の結果から、NRD1 は MMP2、MMP3 の発現を介して食道扁平上皮癌の進展に関与しており、独立した予後予測因子となることが示された。