

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	向 井 正 一 朗
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論 文 題 目			
Overexpression of transmembrane protein BST2 is associated with poor survival in patients with esophageal, gastric, and colorectal cancer (胃癌、食道癌、大腸癌における膜貫通型蛋白質 BST2 の高発現は予後と相関する)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	田 中 信 治	印
審査委員	教 授	大 毛 宏 喜	
審査委員	准教授	北 台 靖 彦	
〔論文審査の要旨〕			
<p>細胞表面蛋白質・分泌蛋白質は癌治療の標的分子として有用である。当研究室ではこれまでに胃癌に特異的に発現し、分泌・細胞表面蛋白質をコードする遺伝子の新規同定を目的とし、数種の胃癌細胞株を材料に CAST (Escherichia coli ampicillin secretion trap)法を用いて胃癌に特異的に発現する分泌・細胞表面膜蛋白質を同定し、発現機能解析を通じて胃癌における新規バイオマーカーとしての意義を検討してきた。本研究では胃癌細胞株 MKN-74 を材料に CAST 解析を行い、CAST ライブラリーにおいて正常胃粘膜組織に比べ胃癌組織において高発現している遺伝子として <i>BST2</i> に着目した。<i>BST2</i> は II 型膜貫通型蛋白質である Bone Marrow Stromal Cell Antigen 2 (BST-2) をコードする遺伝子である。BST-2 は HM1.24 あるいは CD317 として知られており、多発性骨髄腫において高発現し免疫療法の標的として注目され、抗 BST-2 抗体の開発が進んでいる。多発性骨髄腫のモデルマウスを用いた解析では、抗 BST-2 抗体は ADCC を誘導し抗腫瘍効果を発揮することが示された。肺癌、乳癌や子宮内膜癌などでは癌の浸潤及び増殖に関与していることが報告されている。しかし、消化管癌における発現異常、意義については全く検討されていない。そこで本研究では、胃癌、大腸癌、食道癌における BST-2 の発現と予後との関連を解析し、BST-2 の機能について細胞株を用いて検討した。</p> <p>14 種類の全身正常臓器および胃癌組織 9 例を材料に定量的 RT-PCR で <i>BST2</i> の発現を検討したところ、正常臓器では肝臓において <i>BST2</i> の発現が認められたものの、胃癌組織では肝臓よりも発現レベルが高く、<i>BST2</i> の発現は胃癌に特異性が高かった。外科的に切除された胃癌組</p>			

織を材料に免疫染色を施行したところ、非腫瘍部粘膜では BST-2 の発現はほとんど認められなかったが、胃癌切除症例では 180 例中 63 例 (35%)において胃癌細胞の細胞膜に BST-2 の発現が認められた。BST-2 発現と臨床病理学的因子との相関では、BST-2 の発現は T grade ($p=0.0135$)、Stage ($p=0.0431$)、Lymphatic invasion ($p=0.0122$)、Vascular invasion ($p=0.0003$)と有意な相関が認められた。免疫染色の結果を用いて胃癌切除症例の予後との関連を検討したところ、BST-2 陽性例は陰性例に比べ有意に予後不良であった($p=0.0174$)。単変量解析及び多変量解析を用いた検討では BST-2 の発現は独立した予後不良因子であることが示された($p=0.0153$)。大腸癌においても 140 例中 46 例(46%)において大腸癌の細胞膜に BST-2 の発現が認められ、予後との関連は、BST-2 陽性例は陰性例に比べ有意に予後不良であった ($p=0.0268$)。食道癌においては、BST-2 は 132 例中 36 例(27%)において食道癌細胞膜に BST-2 の発現が認められ、予後との関連は、BST-2 陽性例は陰性例に比べ有意に予後不良であった($p=0.0246$)。

BST-2 の癌細胞における機能を明らかにする目的で、胃癌細胞株 MKN-74 において siRNA を用いて BST-2 をノックダウンし、MTT assay にて増殖能を、Modified Boyden chamber assay にて浸潤能を評価した。浸潤能に関しては negative control と比較して有意な差を認めなかったが、増殖能は有意に抑制された。大腸癌細胞株(HT-29、LoVo)、食道癌細胞株(TE-1、TE-8)において機能解析を行ったところ、同様に BST-2 のノックダウンにより増殖能が有意に抑制された。また、BST-2 発現ベクターを作成し、大腸癌細胞株 WiDr に導入し、過剰発現させた状態で増殖能を検討したところ、BST-2 発現ベクター導入株は空ベクター導入株に比べ増殖能を有意に亢進させた。以上のことから BST-2 は腫瘍増殖に促進的に機能することが明らかとなった。

BST-2 が癌の増殖に関与する分子機構を知るために、癌の増殖に関して広く知られている ERK-MAPK 経路、PI3K-AKT 経路との関連を Western blot 法にて検討した。BST-2 をノックダウンすることで negative control と比較し ERK 及び AKT のリン酸化が抑制され、BST-2 はこれらの経路を利用して癌の増殖に関与していると考えられた。

以上の結果から、BST-2 は胃癌、大腸癌、食道癌において高発現しており、BST-2 高発現は独立した予後不良因子であることを明らかとなった。本研究は、BST-2 が癌に特異性の高い細胞表面膜蛋白質であり、有用な診断治療標的・マーカーとなることを示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。