

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	服部 拓也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論文題目 The clinicopathological significance of SPC18 in colorectal cancer: SPC18 participates in tumor progression (大腸癌における SPC18 の臨床病理学的な意義 : SPC18 は腫瘍の進展に関与する)			
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	講師	恵木 浩之	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>がんの制圧に向けて、新規診断治療標的分子の探索は重要な研究課題であり、正常組織で発現が低くがん組織のみで発現が高いものが候補分子として理想的である。以前当研究室では、網羅的遺伝子発現解析の結果から、全身正常組織で発現が低く胃癌の中でも進行癌において発現が亢進している遺伝子として <i>SEC11A</i> を同定した。<i>SEC11A</i> は signal peptidase complex 18 (SPC18) をコードしている遺伝子である。SPC18 は細胞質の小胞体膜上に存在して分泌蛋白前駆体のシグナルペプチドを切断する酵素であり、分泌蛋白の成熟型としての細胞外分泌を制御することが知られている。胃癌においては、SPC18 の発現が予後不良因子であること、TGF-α の分泌を促進することにより腫瘍の進展に関与していることを先行研究において明らかに報告している。しかし大腸癌における SPC18 の発現異常と生物学的意義については全く解析されていない。そこで本研究では大腸癌における SPC18 の発現と予後との関連を解析し、細胞株を用いて SPC18 の機能についても検討した。さらにその前癌病変における SPC18 の発現についても解析を行った。</p> <p>外科的に切除された大腸癌組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 SPC18 の発現はほとんど認められなかったが、腫瘍部では 137 例中 79 例 (58%) において大腸癌細胞の細胞質に SPC18 の発現を認め、陽性例においては癌の浸潤先進部でより強い発現を認める傾向にあった。SPC18 発現と臨床病理学的因子との関係を解析したところ、SPC18 の発現はリンパ節転移の有無 ($p = 0.0315$) 及び Stage の進行 ($p = 0.0240$) との間に有意な相関を認めた。Kaplan-Meier 法で予後との関連を検討したところ、SPC18 陽性例は陰性例に比べ</p>			

有意に予後不良であった($p = 0.0055$)。単変量解析では SPC18 の発現($p = 0.0078$)、stage の進行($p < 0.0001$)及び Budding Grade($p = 0.0006$)が有意な予後不良因子であり、多変量解析を用いた検討では SPC18 の発現は独立した予後不良因子であることが示された($p = 0.0336$)。

SPC18 の大腸癌細胞における機能を明らかにする目的で、大腸癌細胞株 DLD-1、LoVo において siRNA を用いて SPC18 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。SPC18 をノックダウンした大腸癌細胞は negative control siRNA で処理した大腸癌細胞と比較して増殖能(DLD-1: $p < 0.001$ 、Lovo: $p < 0.001$)、浸潤能(DLD-1: $p < 0.001$ 、Lovo: $p < 0.001$) が有意に抑制された。以上のことから SPC18 は大腸癌の増殖、浸潤を促進することが明らかとなった。

SPC18 が増殖に関与する機構として胃癌では TGF- α の分泌促進を介する機構が明らかになっているため、その下流シグナルである EGFR, ERK-MAPK 経路、PI3K-AKT 経路との関連を Western blot 法にて検討した。SPC18 をノックダウンした大腸癌細胞では negative control siRNA で処理した大腸癌細胞と比較し EGFR, ERK 及び AKT のリン酸化が抑制された。以上から SPC18 はこれらの経路を介して癌の増殖に関与していると考えられた。さらに免疫染色を用いて SPC18 に対する β -catenin の核内移行及び MMP7 との関連を検討したところ、SPC18 陽性症例では浸潤先進部における β -catenin の核内移行が有意に高頻度であり($p = 0.0251$)、さらに MMP7 の発現も有意に高いこと($p = 0.0218$)が明らかになった。

大腸癌の発生機構として、conventional adenoma-carcinoma pathway に加えて serrated pathway による経路が知られている。そこで 122 例の前癌病変における SPC18 の発現を免疫染色により検討した。SPC18 の発現は低異型度管状腺腫 24 例に比べて、高異型度管状腺腫 29 例でより強く認められた($p < 0.001$)。一方で、serrated pathway 関連ポリープ(過形成ポリープ 20 例、鋸歯状腺腫 31 例、広基性鋸歯状腺腫/ポリープ 18 例)では発現はほとんど認められなかった。serrated pathway との関連が知られている microsatellite instability (MSI)-high の大腸癌 10 例における SPC18 の発現を検討したところ、陽性例は 1 例(10%)のみと低頻度であった。

以上の結果から、SPC18 は大腸癌において高発現しており、SPC18 高発現は独立した予後不良因子であることが明らかになった。また SPC18 は特に conventional adenoma-carcinoma pathway における発癌に関与し、EGFR, ERK-MAPK 経路、PI3K-AKT 経路を活性化して増殖、浸潤を促進する可能性が示唆された。本研究は、SPC18 が大腸癌に特異性の高い分子であり、有用な新規治療標的となり得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。