

論文内容要旨

Annexin A10 is involved in the induction of
pancreatic duodenal homeobox-1 in gastric cancer
tissue, cells and organoids

(胃癌組織、細胞、オルガノイドにおいて Annexin
A10 は pancreatic duodenal homeobox-1 誘導に関与
する)

Oncology Reports, 2020, in press.

主指導教員：安井 弥 教授

(医系科学研究科 分子病理学)

副指導教員：武島 幸男 教授

(医系科学研究科 病理学)

副指導教員：大上 直秀 准教授

(医系科学研究科 分子病理学)

石川 洸

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

胃癌は世界で3番目の癌死亡を占める代表的な癌である。胃癌の早期発見および治療を行うためにはその病態と生物学的特徴を解明することが必要であり、優れた胃癌のバイオマーカーを同定することは診断・治療の新規標的候補を見出す重要な戦略である。Annexin A10 (ANXA10) はカルシウムイオン依存性にリン脂質に結合するカルシウムイオン結合タンパクの一群であり、Annexin family のタンパクの1つである。Annexin family はカルシウムシグナルや細胞運動、分化、増殖に重要な役割を持つとされている。ANXA10 は正常胃の幽門腺や胃底腺に発現しており、胃癌を含めた複数の癌腫でも ANXA10 の発現が知られている。胃癌においては、ANXA10 の発現減弱が予後不良との関連が報告されているが、胃癌における粘液形質と ANXA10 発現の関係性及びその機能は明らかでない。申請者の所属する研究室では、胃型形質を示す大腸鋸歯状腺癌を用いた解析において Homeobox gene family に属する転写因子の1つである Pancreatic and duodenal homeobox-1(PDX1)と ANXA10 が共発現することを報告した。そこで本研究では胃癌における ANXA10 と粘液形質との関連を明らかにすることを目的とし、さらに ANXA10 の機能、特に PDX1 との関連性について検討した。

外科的に切除された胃癌組織を材料として ANXA10 および PDX1 の免疫組織化学的検討を行った。ANXA10 および PDX1 は胃癌の分化度に関係なく核に陽性像が認められた。ANXA10 発現と臨床病理学的因子との相関を解析した結果、ANXA10 の発現減弱は pN stage($P=0.02$)、pM stage($P<0.001$)、pStage($P=0.008$)と有意に相関していた。さらに、ANXA10 の発現は PDX1 の発現と有意に相関していた($P=0.016$)。Kaplan-Meier 法で ANXA10 と予後との関連を検討したところ、ANXA10 の発現減弱症例は有意に予後不良であった($P=0.010$)。次に胃癌を粘液形質発現により胃型、胃腸混合型、腸型、未分化型に分類し、ANXA10 と粘液形質との関連についての解析を行った。ANXA10 の発現は胃型胃癌において他の粘液形質(胃腸混合型、腸型、未分化型)と比べて有意に高頻度で見られた($P<0.001$)。以上から ANXA10 が胃癌においても胃型形質と関連していることが明らかとなった。

続いて、ANXA10 と PDX1 の関連性を胃癌細胞株を用いて検討した。ウエスタンブロット法

および定量的 RT-PCR 法の 2 つの方法を用いた解析で ANXA10 と PDX1 の発現が各胃癌細胞株で類似した発現態度を示すことを確認した。そこで ANXA10 が高発現している胃癌細胞株 MKN-74 と MKN-45 に対して shRNA を用いて ANXA10 をノックダウンした細胞株を作成、また、ANXA10 が低発現である HSC-57 に対して ANXA10 遺伝子を導入して ANXA10 過剰発現細胞株を作成した。上記 ANXA10 のノックダウンおよび過剰発現細胞株における PDX1 の発現をウェスタンブロットで評価したところ、ANXA10 ノックダウン細胞株では PDX1 の発現減弱が認められ、ANXA10 過剰発現細胞株では PDX1 の発現亢進が見られた。以上から ANXA10 が PDX1 の発現制御に重要な因子であることが明らかとなった。

更にこの ANXA10 と PDX1 の関連が生体に近いオルガノイド培養でも再現できるかを確かめるために、外科的に切除された 10 症例の胃癌および正常胃からオルガノイドを作成した。胃オルガノイドの ANXA10 発現を免疫組織化学的に確認し、発現の認められた正常胃オルガノイドおよび胃癌オルガノイドを用いて胃癌細胞株と同様に shRNA によるノックダウンを行った。ANXA10 ノックダウンオルガノイドは幹細胞様に形態変化が見られたことに加えて、PDX1 の発現低下が認められた。以上よりオルガノイドにおいても ANXA10 が PDX1 の発現制御に関わることが示された。

以上の結果から、ANXA10 は胃癌において胃型粘液形質と関連しており、PDX1 の誘導に重要な役割を担っていることが示唆された。