

論 文 内 容 要 旨

Clinicopathological significance of intelectin-1 in colorectal cancer: Intelectin-1 participates in tumor suppression and favorable progress

(大腸癌における intelectin-1 の臨床病理学的意義:
Intelectin-1 は腫瘍の抑制と良好な予後に関与する)

Pathology International, 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)

勝矢 脩嵩

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

大腸癌は、世界の癌関連死の主要な位置を占めている。早期大腸癌の生存率の改善は認められるものの、局所再発や遠隔転移のために、進行大腸癌の生存率は依然として低いままである。大腸癌の発癌と癌の進行に関連するいくつかの分子が特定されているが、その機序は不明な点が多い。Intelectin-1 (ITLN1) は、抗炎症作用を持ったアディポカインの1つであり、ガラクトフラノースに結合する分泌型レクチンタンパク質である。生体内では、主に腸管の杯細胞から分泌され、炎症と寄生虫感染に関与している。これまでに、ITLN1の低発現は、胃癌、前立腺癌および乳癌患者の予後不良に関連することが報告されている。しかしながら大腸癌におけるITLN1の臨床病理学的意義は全く検討されていない。そこで本研究では大腸癌および大腸癌の前癌病変と考えられる大腸腺腫におけるITLN1の臨床病理学的意義ならびに生物学的機能を明らかにすることを目的とした。さらにITLN1と癌幹細胞マーカーおよび代表的な癌関連分子との関連性についても検討した。

定量的RT-PCRを用いて正常12組織と5つの大腸癌細胞株を材料にITLN1の発現を解析したところ、正常大腸組織と比較して大腸癌細胞株においてITLN1の発現低下がいずれの細胞株においても認められた。大腸癌症例20例を用いてT/N比(腫瘍部と非腫瘍部組織における発現量の比)を算出したところ、16例(80%)の腫瘍部においてITLN1が低発現を示していた。

次に外科的に切除された大腸癌組織を材料に免疫組織化学的検討を行ったところ、非腫瘍部大腸粘膜におけるITLN1の発現は腺管内の杯細胞全てにおいて細胞質に認められ、癌細胞においてもITLN1陽性像は細胞質に認められた。腫瘍細胞のうち5%未満しか発現が認められない症例をITLN1低発現と定義すると、148例中87例(59%)がITLN1低発現であった。ITLN1の低発現と臨床病理学的因子との相関を解析した結果、ITLN1の低発現はM grade ($p=0.0017$)、tumor stage ($p=0.005$)、Budding Grade ($p=0.001$)と有意に相関していた。Kaplan-Meier法で予後との関連を検討したところ、ITLN1低発現例は高発現例に比べ有意に予後不良であった($p=0.0155$)。単変量多変量解析を用いた検討では、ITLN1の低発現は独立した予後不良因子であった($p=0.0376$)。

次に、126 症例の大腸癌切除例について ITLN1 と癌幹細胞マーカーおよび癌関連分子 (β -catenin、p53、CDX2、MUC2、MUC5AC、Claudin-18、CD44、MLH1、MSH2) との関連について免疫組織化学的に解析を行った。ITLN1 の低発現は、 β -catenin、p53、CDX2、MUC5AC、Claudin-18 および CD44 の発現と有意に相関することを見出した。

次に、大腸癌の前駆病変と考えられる大腸腺腫標本 96 例 (低異型度管状腺腫、高異型度管状腺腫、鋸歯状腺腫および SSA/P) についても免疫組織化学的染色を行い、染色強度によるスコア化を行った。その結果、大腸正常細胞と比べていずれの腺腫も ITLN1 の染色強度の低下が認められた ($p < 0.05$)。低異型度管状腺腫に比べて高異型度管状腺腫では染色強度の低下が認められたが ($p < 0.05$)、鋸歯状腺腫と SSA/P では染色強度に有意差は認められなかった。この結果からは、conventional adenoma-carcinoma pathway と serrated pathway の両方において、ITLN1 の発現低下が認められることが示された。

ITLN1 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、WiDr において siRNA を用いて ITLN1 をノックダウンし、MTT assay にて増殖能を評価した。ITLN1 をノックダウンした二つの大腸癌細胞は negative control siRNA で処理した大腸癌細胞と比較して増殖能 (DLD-1: $p < 0.05$ 、WiDr: $p < 0.05$) が有意に増強された。以上のことから ITLN1 は大腸癌の増殖能を抑制することが明らかとなった。また ITLN1 をノックダウンした二つの大腸癌細胞の p-EGFR、p-Erk および p-Akt の発現レベルが、negative control siRNA で処理した大腸癌細胞よりも高かったことから、ITLN1 が大腸癌の発生に関与する EGFR 経路を調整する分子であると考えられた。

以上の結果から、ITLN1 の発現低下が大腸癌に関与し、大腸癌に対して抑制的に働く可能性のあることが示された。