

氏名（本籍）	今井健晴（岐阜県）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲第1094号
学位授与日付	平成31年3月25日
学位授与要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Overexpression of KIF11 in Gastric Cancer with Intestinal Mucin Phenotype
審査委員	（主査）教授 原 明 （副査）教授 中島 茂 教授 古家 琢也

論文内容の要旨

【諸言】

近年注目されている癌幹細胞は癌の病態解明において重要であるが、胃癌においても同様である。スフェロイドアッセイは癌幹細胞の同定に用いられるが、胃癌細胞 MKN-45 および MKN-74 がスフェロイド形成すると、Kinesin family member 11（以下、KIF11）遺伝子が高発現することを、先行研究として報告した。KIF11 は、核の有糸分裂における紡錘体形成に関与するとされ、これまで乳癌、肺癌、卵巣癌、膀胱癌、膵癌においても高発現することが報告されている。しかし、胃癌における KIF11 発現の意義は不明である。そこで本研究は、胃癌における KIF11 発現の意義を臨床的、実験的に検討することを目的とした。

【対象と方法】

KIF11 の発現解析

胃癌切除組織 13 例とヒト正常 14 臓器を用いて、定量 RT-PCR を用いて KIF11 mRNA の発現を検討した。次いで、胃癌手術標本パラフィン包埋ブロック 165 例を用いて、免疫組織化学染色にて KIF11 の発現を評価し、病理組織学的因子や予後との関連を検討した。さらに、胃型上皮細胞マーカー（MUC5AC と MUC6）および腸型上皮細胞マーカー（MUC2 と CD10）を用いて、胃型・腸型粘液形質と KIF11 との関連も検討した。

KIF11 の機能解析

胃癌細胞株 MKN-1, MKN-7, MKN-45, MKN-74 を用いて、Western blot 法にて KIF11 の発現を評価した。次いで KIF11 が発現した胃癌細胞株の KIF11 を、si-RNA を用いてノックダウンした後スフェロイドアッセイを行い、スフェロイドの数と大きさを評価した。同時に Western blot 法にて Erk およびリン酸化 Erk の変化を検討し、スフェロイド形成とシグナル伝達についての評価も行った。

【結果】

ヒト正常臓器と胃癌切除組織における KIF11 mRNA の発現解析

ヒト正常 14 臓器では、骨髄に KIF11 mRNA が高発現しているものの、その他の組織は発現が低かった。一方、胃癌組織 13 例では正常胃粘膜と比較して、1.67-10.2 倍と高発現していた。

胃癌切除組織における KIF11 の免疫組織化学染色による発現解析

胃癌切除標本 165 例中 119 例（72%）で KIF11 が陽性で、高分化型および低分化型腺癌のいずれに

も発現が見られた。KIF11 の発現と臨床病理学的因子(年齢, 性別, TNM 分類, 臨床病期, リンパ管侵襲, 静脈侵襲, 組織型など)の関連を検討したが, いずれの因子とも相関は認めなかった。一方 KIF11 の発現と胃型・腸型粘液形質との関連について検討したところ, KIF11 陽性例 38%および陰性例 20%に腸型粘液形質を認め, KIF11 の発現と腸型粘液形質との間に有意な相関を認めた ($P = 0.0404$)。

胃癌細胞株における KIF11 の機能解析

KIF11 が MKN-1, MKN-45, MKN-74 に発現していたため, MKN-74 に対して 3 種類の si-RNA を用いて KIF11 をノックダウンした後スフェロイドアッセイを行ったところ, KIF11 のノックダウンにより, スフェロイドの数と大きさがともに 50%以上減少した。MKN-45 においても, 同様の結果であった。さらに, KIF11 のノックダウンにより Erk1/2 のリン酸化レベルが低下した。

【考察】

多くの固形癌で KIF11 が発現しているが, 胃癌においても KIF11 は高発現していた。しかしその発現は, 組織分化度とは相関しなかった。KIF11 のノックダウンにより, 胃癌細胞株のスフェロイドの数と大きさが共に減少し, また Erk1/2 のリン酸化レベルが低下したことから, KIF11 は Erk リン酸化経路を介して胃癌細胞のスフェロイド形成に深く関与していると考えられた。また KIF11 は, 特に腸型粘液形質の胃癌において高発現していたことから, 胃癌の癌幹細胞性維持に不可欠であることが示唆される一方, 腸型粘液形質の胃癌が薬剤耐性を示しやすいという性質を考慮すると, 胃癌の薬剤耐性に関わる分子のひとつと考えられた。

【結論】

KIF11 は腸型粘液形質の胃癌において高発現したことから, 胃癌の癌幹細胞性の維持に不可欠な分子であり, 胃癌の薬剤耐性に関わる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

Kinesin family member 11 (KIF11) は, 核の有糸分裂における紡錘体形成に関与するとされ, これまで様々な癌で高発現することが報告されてきたが, 胃癌における発現については不明であった。本研究において, 胃癌における KIF11 発現は組織分化度とは相関しなかったものの, 腸型粘液形質の胃癌において高発現することが明らかとなった。一方, 臨床病理学的因子と KIF11 発現との関連は認められなかった。KIF11 ノックダウンにより, スフェロイド形成の数と大きさが減少したことから, KIF11 は胃癌の癌幹細胞性の維持に不可欠である可能性が示唆された。本研究の成果は, 胃癌における KIF11 発現が, 薬剤耐性に関わる可能性を示唆するものであり, 腫瘍学の進歩に少なからず寄与する研究であると認められる。

[主論文公表誌]

Takeharu Imai, Naohide Oue, Masahiro Nishioka, Shoichiro Mukai, Takashi Oshima, Naoya Sakamoto, Kazuhiro Sentani, Keisuke Matsusaki, Kazuhiro Yoshida, Wataru Yasui: Overexpression of KIF11 in Gastric Cancer with Intestinal Mucin Phenotype. Pathobiology. 84, 16-24 (2016)