

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏 名 :
Full Name 安福 至

学位論文題目 :
Thesis Title Prognostic significance of LDL receptor-related protein 1B in patients with gastric cancer

学位論文要約 :
Summary of Thesis

【背景】

Low-density lipoprotein receptor (LDLR)は細胞膜に存在する糖タンパクであり、リガンド結合、その内在化、すなわち ligand dependent endocytosis を介したシグナル伝達に関与している。最近の研究より、LDLR ファミリータンパク質である LDLR-related protein 1B(LRP1B)は癌抑制に働くことが示唆されているが、胃癌での発現や、その臨床予後的意義、また実際に ligand dependent endocytosis が、起きているのかは明らかになっていない。今回われわれは胃癌手術症例で得られた切除標本に対してこの LRP1B 細胞内ドメインに対する抗体を用いた免疫染色を行い、LRP1b の局在と生命予後を含む臨床病理学因子との関連を検討した。また二重蛍光染色法を用いて LRP1B が endocytic recycling compartments に局在していること、すなわち胃癌細胞で、ligand dependent endocytosis を介したシグナル伝達が起きているかを検証した。

【対象と方法】

対象は当院消化器外科で手術を行った胃癌症例 100 例。岐阜大学倫理委員会の承認を得て研究を行った。LRP1B の[D/E]XXXL[L/I]-type dileucine sorting signal を含む細胞内ドメインに対する、該当ペプチド RNSLGSVDERKELLPKKIEIGRETVA をウサギに免疫し、このペプチドを用いたアフィニティークロマトグラフィーで精製し、ImmPRESSTM polymerized reporter enzyme staining system (Vector laboratories, Inc. Burlingame, CA, USA) を使用し免疫組織染色を行った。

LRP1B の発現に関する免疫染色は 400 倍拡大観察 5 視野で 100 個以上の胃癌細胞が観察できる標本切片で評価を行った。LRP1B 発現の有無、局在により症例を以下の 4 グループに分類した。①LRP1B-negative 群: LRP1B 発現が胃癌細胞の 10%以下であるもの、②LRP1B-cell surface positive 群:10%を上回る胃癌細胞において LRP1B 発現が細胞表面に観察されるもの、③LRP1B-cytoplasmic positive 群:10%を上回る胃癌細胞において LRP1b 発現が細胞質に観察されるが細胞表面に観察されないもの、④LRP1B-nuclear positive 群:10%を上回る胃癌細胞において LRP1B 発現が核に観察されるもの。

統計解析は EZR version 1.41(Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan)を用いて行った。カテゴリ変数の比較には Fisher's 正確検定を用いた。生存期間は Kaplan-Meier 曲線を用いて検討した。

LRP1B の局在に関する二重蛍光染色は KATO III と GPM-2 の 2 種類の diffuse-type 胃癌の cell line を用いた。

【結果】

LRP1B の局在と予後の検討に用いた胃癌症例 100 例の背景を以下に示す。術前化学療法などの前治療を行った症例は含まれていない。Intestinal-type/diffuse-type=44 例 /56 例 , pTstage:T1/T2/T3/T4a/T4b=12/10/26/46/5 , pNStage:N0/N1/N2/N3a/N3b=35/24/14/17/10 , pStage:I/II/III/IV=20/29/51/0, LRP1B の局在:negative群/cytoplasm群/surface群/nuclear群=48/45/4/3。全 100 症例において LRP1B 発現が細胞質に限局している症例(cytoplasm 群)はそれ以外の症例と比較して予

後良好であった(P=0.0325)。diffuse-type 胃癌 56 例においても同様に cytoplasm 群で予後良好であった(P=0.0014)。Intestinal-type 胃癌 46 例ではこの傾向は認められなかった(P=0.994)。生存に寄与する因子の多変量解析では LRP1B cytoplasm-negative は独立した予後不良因子であった(HR:3.058(95%CI 1.022-9.149, P=0.046)。LRP1B の細胞内局在を検討する二重蛍光染色は endocytic recycling compartment を染色する RAB11FIP1 抗体と LRP1b 抗体を用いて行い、LRP1B が diffuse-type 胃癌の recycling endosome に発現していること、すなわちこれらの細胞で、ligand dependent endocytosis を介したシグナル伝達が行われている可能性をみいだした。

【考察】

近年 LRP1B は癌抑制遺伝子であると認知されてきている。以前われわれは乳癌細胞において LRP1B の核移行により浸潤性の増加がみられることを報告した。

本研究における免疫染色では 45 例で LRP1B が細胞質に発現していることが観察された。また二重蛍光染色では LRP1B は diffuse-type 胃癌において RAB11FIP1 抗体陽性の recycling endosome に発現していることが観察された。別の LRP1B 抗体を用いた研究 (Protein Atlas Projects) においても LRP1B は主に細胞質に存在していると報告されており、胃癌細胞の多くは細胞質とくに endocytic compartment に存在している可能性が高いと考えられる。

Diffuse-type 胃癌で、cytoplasm 群で予後良好であったことと合わせると、LRP1B の ligand dependent endocytosis を介したシグナル伝達が喪失することが、Diffuse-type 胃癌の進行に関係していることが示唆された。従来より Intestinal-type と diffuse-type の胃癌は、発癌および進行分子メカニズムに違いがあると考えられてきたが、LRP1B の ligand dependent endocytosis を介したシグナル伝達も Intestinal-type と diffuse-type の胃癌進行の違いを反映している可能性も示唆された。

【結論】

本研究により、diffuse-type胃癌においてLRP1Bの細胞質発現はendosomal recycling compartmentと関連し、良好な予後を示唆する因子であることが明らかとなった。