

氏名（本籍）	安 福 至	（岐阜県）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲第 1196 号	
学位授与日付	令和 4 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	Prognostic significance of LDL receptor-related protein 1B in patients with gastric cancer	
審査委員	（主査）教授	道上 知美
	（副査）教授	古家 琢也 教授 山口 瞬

論文内容の要旨

【背景】

Low-density lipoprotein receptor (LDLR)は細胞膜に存在する糖蛋白質であり、LDLを始めとする様々なリガンドの細胞内取り込み、すなわち、リガンド依存性 endocytosis によるシグナル伝達に関与している。近年の報告では、LDLR ファミリーに属する LDLR-related protein 1B(LRP1B)は、リポ蛋白質と結合して細胞質内に移動し、シグナル伝達後リサイクルされ再度細胞膜に発現すること [Endocytic recycling compartment (ERC)]が判明している。LRP1B は様々な癌腫において遺伝子変異、発現低下、発現の局在変化が報告され、悪性度や予後不良と関係している。我々の乳癌を用いた検討でも、LRP1B の核内発現症例は有意に予後不良であった。in vitro の検討でも LRP1B の発現抑制は、腫瘍増殖ならびに遊走能を抑制することから、LRP1B は tumor suppressor と考えられている。

胃癌は日本を始めアジアで高頻度の癌である。診断と治療の進歩による予後の改善はみられるが、進行再発癌は依然完治が難しく予後不良である。胃癌は組織学的に Intestinal-type と Diffuse-type に分けられるが、発生母地、遺伝子異常のパターンも異なり、新規治療開発のためには分子メカニズムの解明は不可欠である。本研究では、胃癌における LRP1B の臨床的意義、リガンド依存性エンドサイトーシスへの関与について、胃癌手術症例および胃癌細胞株を用いて検証した。なお、本研究は岐阜大学医学研究等倫理審査委員会の承認を得て実施した。

【対象と方法】

1. 胃癌症例を用いた LRP1B の局在と予後に関する検討

2005 年 1 月から 2011 年 12 月の間に岐阜大学医学部附属病院消化器外科で根治手術を行った胃癌症例 100 例（術前治療例、Stage IV 症例は除く）を対象とし、LRP1B の細胞内ドメインに対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。判定は陰性群 (LRP1B 免疫反応性が癌細胞の 10%未満)、細胞膜陽性群 (LRP1B が 10%以上の癌細胞の細胞膜で陽性)、細胞質陽性群 (LRP1B が 10%以上の癌細胞の細胞質で陽性)、核陽性群 (LRP1B が 10%以上の癌細胞の核で陽性)の 4 群とし、LRP1B の発現の有無と局在を評価し、生命予後との関連を検討した。

2. LRP1B と ERC の関連の検討

Diffuse-type 胃癌細胞株 KATO-III および GPM-2 を用いて、LRP1B 抗体と ERC を染色する RAB11 family interacting protein 1 (RAB11FIP1)抗体を用いた二重蛍光染色を行いそれらの局在を評価した。

【結果】

胃癌症例 100 例の臨床病理学的進行度 (TNM 分類) は、pT:T1/T2/T3/T4a/T4b=12 例/10 例/26 例/46 例/5 例、pN:N0/N1/N2/N3a/N3b=35 例/24 例/14 例/17 例/10 例、pStage: I 期/II 期/III 期=20 例/29 例/51 例であった。組織型は Intestinal-type:44 例、Diffuse-type:56 例であった。胃癌組織における LRP1B の染色性は 52 例 (52%) で陽性、細胞質陽性群 45 例、細胞膜陽性群 4 例、核陽性群 3 例であった。LRP1B の発現と予後との検討では、細胞質陽性群はそれ以外の症例 (陰性群 + 細胞膜陽性群 + 核陽性群; 55 例) と比較して有意に予後良好であった ($P=0.0325$)。組織別の検討では、Diffuse-type においてその差は顕著であった ($P=0.0014$)。一方 Intestinal-type では有意な差を認めなかった ($P=0.994$)。Diffuse-type 症例を用いた多変量解析において、N2 以上のリンパ節転移症例 [HR:4.264 (95%CI 1.660-10.96) $P=0.026$]、LRP1B の細胞質非発現 [HR:3.058 (95%CI 1.022-9.149) $P=0.046$] は独立した予後不良因子であった。

Diffuse-type 胃癌細胞株における LRP1B と RAB11FIP1 抗体による二重染色では、両者は細胞膜および細胞質において共局在していた。

【考察】

LRP1B は tumor suppressor の可能性が示唆されているが、発現臓器によりその挙動は異なる。以前我々は乳癌 Luminal A type の検討において、LRP1B が核に発現している症例は 20% で予後不良であることを報告した。胃癌検体を用いた本研究において LRP1B の細胞質発現は 45% であった。核内発現例の予後はやはり不良であったが、全症例における頻度はわずか 3% と乳癌 (16%) よりはるかに低く、発現パターンに臓器特異性が見られた。Diffuse-type 胃癌において細胞質での LRP1B 発現が予後因子であったことから、何らかのリガンドによるシグナル伝達により LRP1B の発現局在が細胞質から変化することや、LRP1B 遺伝子変異による LRP1B 蛋白質の発現低下や消失により LRP1B の腫瘍抑制作用が減弱化することで癌が進行する可能性が示唆された。Diffuse-type 胃癌細胞株の二重蛍光染色において LRP1B と RAB11FIP1 が共局在を示したことは、LRP1B がリサイクルされたエンドソーム (ERC) で発現していることを示しており、LRP1B の ERC を介したシグナル伝達が Diffuse-type 胃癌の進行に深く関係し、Intestinal-type との進行様式の違いを反映している可能性が示唆された。

【結論】

Diffuse-type 胃癌において、LRP1B の細胞質での発現は良好な予後を示唆する因子であった。LRP1B は ERC によるシグナル伝達を介して腫瘍増殖を抑制していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者 安福至は、Diffuse-type 胃癌において LDLR-related protein 1B (LRP1B) がエンドサイトーシスに関与し、その細胞質への発現が Diffuse-type 胃癌の良好な予後を示唆する因子であることを明らかにした。本研究成果は、今後の外科腫瘍学の発展・進歩に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Itaru Yasufuku, Chiemi Saigo, Yusuke Kito, Kazuhiro Yoshida, Tamotsu Takeuchi: Prognostic significance of LDL receptor-related protein 1B in patients with gastric cancer. *Journal of Molecular Histology* 52, 165–172 (2021). doi: 10.1007/s10735-020-09932-2