

論文内容の要旨

論文提出者氏名 柏本 錦吾

論文題目

Overexpression of TRIM44 contributes to malignant outcome in gastric carcinoma

論文内容の要旨

胃癌において様々な治療標的分子が同定されてきたが、実地臨床の現場で有用な分子は未だ少なく、診断・治療標的分子の更なる探索が必要である。今回申請者らは、RING-finger 型 E3 リガーゼである Tripartite motif-containing protein 44 (TRIM44) 遺伝子に注目し、胃癌における TRIM44 遺伝子の発現意義と臨床応用の可能性について検討した。

ユビキチン化はタンパク質の翻訳後修飾の一つであるが、その主な機能はプロテアソームを介したタンパク質分解であり、生体内で極めて重要な役目を担っている。近年、このユビキチン-プロテアソーム関連因子として多くの RING-finger 型 E3 リガーゼが明らかになり、これらが発癌に関与すると報告されている。RING finger, B-box, コイルドコイルドメインを持つことで分類される tripartite motif (TRIM)ファミリーは、ユビキチンリガーゼとして転写制御、細胞増殖、アポトーシス、癌化などに関与し、癌の発癌、増殖、進展において極めて重要な働きをもつことが報告されている。今回、TRIM ファミリーの TRIM44 遺伝子に注目した。TRIM44 は マウスの脳からクローニングされたタンパクで、頭頸部癌での遺伝子増幅の報告や、食道腺癌及び接合部癌の予後に関連すると報告されている。しかし、胃癌に関する報告はなく、胃癌での癌関連遺伝子としての機能解析と臨床検体での発現意義について調べた。

胃癌細胞株 7 株 (KatoIII、NUGC4、HGC27、MKN7、MKN28、MKN45、MKN74) と、2001 年-2003 年に当院で治癒切除した連続症例 112 例の臨床検体を用いて解析を行った。7 種類の

胃癌細胞株パネルでの TRIM44 の蛋白レベルでの解析では、7 株中 2 株 (MKN28、MKN45)、29%に過剰発現を認めた。次に、TRIM44 高発現株を用いたノックダウン実験を行った。3 種類の TRIM44 特異的 siRNA を用いて MKN28 胃癌細胞株の TRIM44 遺伝子発現をノックダウンしたところ、コントロール群と比較して 96h 後で細胞増殖抑制を認めた。MKN45 株でも同様の傾向であった。また、migration assay により遊走能を評価したところ、コントロール群と比較して遊走能が有意に抑制された。さらに、invasion assay による浸潤能の評価でも、コントロール群と比較して TRIM44 特異的 siRNA 導入株では浸潤能が有意に抑制された。以上により TRIM44 が胃癌において細胞増殖、遊走、浸潤において重要な役割を果たすことが明らかとなった。

次に当院で治癒切除した胃癌連続症例 112 例における TRIM44 特異抗体を用いた免疫組織学的解析を行った。判定は、共同研究者の国立がん研究センター病理(現 防衛医科大学病態病理学講座教授)津田 均博士が行った。TRIM44 蛋白発現は、正常胃粘膜には発現を認めず、癌細胞では細胞質と核の両方に発現が認められた。TRIM44 高発現群が 28 例(25%)、低発現群は 84 例(75%)であり、高発現群で有意に進行癌型肉眼型、リンパ管浸潤陽性、再発率が有意に高い結果であった。TRIM44 陽性群の再発例の 82% (9/11)に腹膜再発を認め、陰性群の 38% (5/13)に比べ有意に高値であった。一方、陽性群の血行性再発は認めなかった。TRIM44 が胃癌の腹膜播種に関連する分子である可能性が示唆された。多変量解析で TRIM44 高発現は、腫瘍深達度、リンパ節転移とともに独立した予後因子となった(P = 0.0233, ハザード比 3.37 [1.18-9.64])。今回申請者らは胃癌における新規癌遺伝子として TRIM44 遺伝子の発現が悪性度や予後に関連しバイオマーカーとしての有望であることを明らかにした。

以上より、TRIM44 は胃癌の悪性度や予後に関連する新規の治療標的・癌関連遺伝子候補である。今後の臨床応用に極めて有用性の高い分子と考えられる。