

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 西村 幸寿

### 論文題目

Overexpression of YWHAZ relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of gastric carcinoma

### 論文内容の要旨

胃癌に対する診断技術や治療戦略は著しく進歩しているが、進行癌に対しては再発率が高く、未だ予後不良な疾患である。これまで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。14-3-3 蛋白ファミリーの YWHAZ 遺伝子(14-3-3ζ)は他癌腫において発癌や増殖への関連を注目されているが、今回申請者らは YWHAZ 遺伝子が胃癌の新たな診断や悪性度予測として分子標的遺伝子となる可能性について検討した。

14-3-3 蛋白ファミリーは動物、植物、酵母に至る真核生物に広く分布している。哺乳類で β, γ, ε, ζ, η, σ, τ の7種類のアイソフォームが存在し、それぞれ異なった遺伝子によりコードされている。モノアミン合成系の酵素から核内因子まで、多くの標的タンパク質のリン酸化を契機として結合し、その活性を調節し、また、蛋白質と複合体を形成し、細胞の増殖と分化、細胞周期、細胞の運動や形態変化、細胞機能にかかわる様々なシグナルを調節している。YWHAZ は、8q22.3 に坐し、様々な癌種の遺伝子増幅領域に存在する。多くの癌で過剰発現し、発癌や増殖に関連する。特に、乳癌、肺癌、頭頸部癌では予後因子であり、乳癌では抗癌剤耐性に関連することが明らかになっている。胃癌では、YWHAZ 遺伝子の発現や分子機構はこれまで明らかではなかったが、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 141 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 YWHAZ の蛋白レベルでの解析では、7 株中 6 株 (HGC27 を除く)、86% に過剰発現を認めた。次に、YAHAZ 高発現株を用いたノックダウン実験では、数種類の YWHAZ 特異的 siRNA を用いて MKN74 胃癌細胞株の YWHAZ 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 72h 後、120h 後で細胞増殖抑制を認めた。MKN28 株でも同様であった。また、migration assay による遊走能と invasion assay による浸潤能を評価したところ、コントロール群と比較して YWHAZ 特異的 siRNA 導入株では有意に抑制された。以上より YWHAZ 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。癌抑制型 microRNA である miR-375 の発現を臨床検体で評価したところ YWHAZ 高発現例では YWHAZ 低発現例と比べ、癌組織での miR-375 発現が有意に抑制されていた。

次に当院で治癒切除した胃癌連続症例 141 例における YWHAZ 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。YWHAZ 蛋白は、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。YWHAZ 高発現群が 72 例(51%)、低発現群は 69 例(49%)であり、高発現群で有意に腫瘍径、静脈・リンパ管浸潤陽性、深達度高度、リンパ節転移陽性、再発率が有意に高い結果であった。細胞質、核の発現レベル別に予後と比較すると、共に高発現で予後不良であるが、細胞質の発現レベルがより予後に関連していた。多変量解析で YWHAZ 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 = 0.0491, ハザード比 2.307 [1.003-5.304])。今回申請者らは胃癌における新規癌遺伝子として YWHAZ 遺伝子の発現が悪性度や予後に関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、YWHAZ 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り、YWHAZ をターゲットとした治療薬の開発や診断治療への応用が期待される。