

Title	Characterization of soluble E-cadherin as a disease marker in gastric cancer patients
Author(s)	五福, 淳二
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42919
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	五 福 淳 二
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 5 8 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 12 年 3 月 27 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 ・ 論 文 名	Characterization of soluble E-cadherin as a disease marker in gastric cancer patients (胃癌患者における可溶性 E-カドヘリンの腫瘍マーカーとしての特性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 野 口 眞 三 郎 教 授 祖 父 江 憲 治

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

上皮細胞における細胞間接着因子である E-カドヘリン (E-cad) は分子量 120kD の細胞膜貫通型の糖蛋白である。癌細胞においてはしばしば E-cad の発現性の低下が見られ、これが浸潤、転移をはじめとする癌の進行と関係することが報告されている。一方、E-cad は細胞膜貫通部位近傍で限定分解され 80kD の可溶性フラグメント (S-ECD) を生じるが、この S-ECD の血清中の濃度は、癌患者および上皮組織の炎症性疾患などで上昇することも報告されている。本研究では、まず、血清中 S-ECD の腫瘍マーカーとしての臨床応用の可能性を検討するため、外科手術を行った胃癌患者の術前後における血清 S-ECD 濃度を測定し、健常人のコントロールおよび癌の臨床病理学的因子と比較した。次に、血清 S-ECD の起源を検索するため、癌組織に含まれる E-cad および S-ECD の量をウェスタンブロットにて、また癌細胞に発現する E-cad を免疫組織染色にて評価し、血清中 S-ECD 濃度との関連性を検討した。

【方法ならびに成績】

E-cad に対するモノクローナル抗体 HECD-1 および SHE13-6 を使った EIA キットを用いて胃癌患者 81 例の血清 S-ECD 濃度を測定した。胃癌患者の術前血清 S-ECD 濃度の平均値は $4.7 \pm 2.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、健常人 20 人の血清 S-ECD 濃度 $2.5 \pm 0.7 \mu\text{g}/\text{ml}$ と比較して有意に高値を示した ($p < 0.0001$)。血清 S-ECD の正常値を $4.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ (健常人の平均値 + 2SD) に設定した場合、胃癌患者の 67% がこれを上回り、同一患者群の血清 CEA、CA19-9 の陽性率 (それぞれ 4.4%、13.3%) と比較して高い陽性率が得られた ($p < 0.0001$)。次に、血清 S-ECD 濃度と胃癌の深達度、リンパ節転移、遠隔転移、組織学的進行度について比較した。血清 S-ECD 濃度は病期が進行するにつれて増加する傾向を示したが、統計学的に有意な差は存在しなかった。さらに手術前に加えて、術後 7 日目、14 日目、21 日目における血清 S-ECD 濃度を測定したところ、術前高値を示した症例は、手術後経時的に血清 S-ECD は低下した ($p < 0.0001$)。術前正常値の症例は手術前後で血清 S-ECD 値は殆ど変化しなかった。

切除標本における胃癌細胞の E-cad 発現性は HECD-1 を 1 次抗体とした ABC 法による免疫組織学的手法を用いて検索した。評価は、(+) : 正常胃粘膜と同等の E-cad 発現を認めるもの、(±) : 部分的に減弱しているもの、(-) : まったく発現していないものの 3 段階とした。E-cad の発現減弱 (±) 群は全体の 52% を占めるが、血清 S-ECD 濃度の平均値は $6.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ で有意に他の群より高値を示した。E-cad (+) 群は 27%、E-cad (-) 群は 21

%を占めるが、血清 S-ECD 濃度の平均値はそれぞれ $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ および $3.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ で、健常者の平均値 $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ に比して若干高値を示すものの有意な差は認めなかった。この 3 群の癌組織および正常上皮についてウェスタンブロットを行ったところ、120kD の full length の E-cad のバンドは免疫組織染色における E-cad の発現性と同様、正常上皮および E-cad (+) 群で強く、E-cad (±) 群ではやや弱く、E-cad (-) 群では殆ど認められなかった。一方、80kD の S-ECD のバンドは E-cad (±) 群で強く、E-cad (+) 群ではやや弱く、正常上皮および E-cad (-) 群では痕跡程度にしか認められなかった。さらに detergent を含まないリン酸緩衝液で抽出した画分では、各群とも 120kD の E-cad は存在せず、80kD の S-ECD のみが E-cad (+)、E-cad (±) の症例で認められた。即ち、癌組織において細胞膜を含まない可溶性分画に高濃度に S-ECD が存在することが確認された。

【総括】

胃癌患者の血清、癌部、非癌部組織を S-ECD 産生について総合的に検討した。免疫組織染色で癌細胞の E-cad 発現を正常、減弱、完全消失の三段階に分類したところ、E-cad 減弱群は半数以上であり最も多くを占めた。E-cad 減弱症例はウェスタンブロットで full length の E-cad の減少と、細胞膜を含まない可溶性分画に存在する 80 kD の S-ECD の増加を認め、さらに、血清 S-ECD 値は他の群より高値を示した。つまり、血清 S-ECD は E-cad 発現低下に伴い産生される癌組織の S-ECD を起源とすると考えられた。一方、臨床的検討では、健常人と比較し胃癌患者では約 60% の症例で血清 S-ECD の異常高値を認め、これは外科的腫瘍切除した後漸減した。今後特異性の検討を必要とするが、血清 S-ECD は感度の高い腫瘍マーカーとして臨床応用の可能性が期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、胃癌患者の血清中 soluble E-cadherin (S-ECD) 濃度測定の臨床的意義および血清 S-ECD 上昇の機構について検討したものである。まず胃癌患者 81 例の血清 S-ECD 濃度を測定し、健常者と比較して有意に高値を示すこと、同一患者群の血清 CEA、CA19-9 と比較して高い陽性率が得られたこと、手術後経時的に血清 S-ECD は低下したことより sensitivity の高い腫瘍マーカーとなりうる可能性が示された。次に、免疫組織染色で胃癌症例を E-cadherin 陽性群 [E-cad (+)]、減弱群 [E-cad (±)]、消失群 [E-cad (-)] の 3 群に分け、それぞれについて癌組織に含まれる S-ECD の量をウェスタンブロットにて検索し、E-cad (±) 群の癌組織の可溶性分画にもっとも高濃度に S-ECD が存在することが確認された。さらに末梢血中 S-ECD 濃度を測定して各群を比較検討し、E-cad (±) 群の血清 S-ECD 濃度が有意に他の群 (E-cad (+) 群、E-cad (-) 群) より高値となることを示した。これらのことより、胃癌患者の末梢血中の S-ECD の起源が癌組織であり、血清 S-ECD は腫瘍の E-cad の発現性を反映している可能性が示された。S-ECD の産生においては E-cadherin 分解の亢進が関与していることが推測されるが、今後 E-cadherin 分解機構の解明が期待される。本研究は癌患者において増加している血清 S-ECD と癌組織における E-cadherin の免疫組織学的発現性が関連していることを示して血清 S-ECD 濃度の面から癌の特性について分析し、さらに腫瘍マーカーとして臨床応用に発展する可能性について検討しており、学位の授与に値すると考えられる。