

Title	Human stomach-specific gene, CALL, is down-regulated in gastric cancer
Author(s)	塩崎, 憲
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43730">https://hdl.handle.net/11094/43730</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	しお塩 ぎき崎 けん憲
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16634 号
学位授与年月日	平成14年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Human stomach-specific gene, CAII, is down-regulated in gastric cancer (胃癌で発現が低下するヒト胃に特異的な新規遺伝子 CAII)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人  (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

本邦において胃癌は肺癌に次ぐ死亡率の高い悪性腫瘍であり、早期胃癌を除き一般的には予後不良で、診断・治療を含め改善すべき点が多く残されている。胃癌発生にかかわる分子生物学的機構も、幾つかの発癌に関わる遺伝子異常が明らかになっている大腸癌に比べ、未だ不明な点が多く、胃癌における遺伝子異常の解析が、胃癌の病態を理解し、治療成績を向上させるためには重要と考えられる。未知の遺伝子を同定する目的で、Differential Display (DD) 法などが行われ、種々の悪性腫瘍においてその候補遺伝子が報告されてきたが、臨床例における解析では癌との関連性が見いだされない場合が多かった。そこで、われわれは胃癌患者の癌部、非癌部の組織を用いて行った DD 法により同定された新規遺伝子 (CAII) に関して、臓器特異性の検証と臨床病理学的解析およびヒト胃癌細胞への遺伝子導入による生物学的特性の解析を行った。

#### 【方法】

CAII の臓器特異性を検証するため、50種類の臓器 mRNA を dot blot したフィルターに対して CAII cDNA を probe とした hybridization を行った。次に、外科的切除を行った胃癌50症例の癌部、非癌部胃粘膜組織における CAII の発現性を検討した。発現性は、RT-PCR 法にて定量的に行った。定量は、癌部、非癌部胃粘膜組織の RT-PCR 増幅産物を電気泳動し、見いだされた増幅バンド輝度を対照遺伝子である  $\beta$ -actin のバンド輝度に対する割合として数値化し、CAII の相対的発現量とした。胃癌における CAII の発現の意義を検討するため、相対的発現量と性別、年齢、病変の占拠部位、組織学的分化度、深達度、リンパ節転移の有無、進行度等の臨床病理学的諸因子との関連性を比較した。さらに、CAII の局在を明らかにするため、CAII の合成ペプチドに対する抗ウサギ抗 CAII ポリクローナル抗体を作製し免疫染色を行った。また、生物学的な特性を検討するため、CAII をヒト胃癌細胞株 (MKN28) に (heat-shock 法により) 遺伝子導入し、colony formation assay を行った。

#### 【成績】

Dot hybridization を用いた検索により、CAII は50種類の臓器のうち胃にきわめて高い発現を認めた。50症例の臨床検体を対象におこなった定量的 RT-PCR 法の結果、CAII は全ての非癌部胃粘膜組織に発現しており、癌部組織では31例 (62%) で発現が消失、10例 (20%) で非癌部胃粘膜組織に比べ発現低下、9例 (18%) で非癌部胃組織と同様の発現がみられた。非癌部組織における CAII の相対的発現量の平均は  $0.85 \pm 0.36$  であり、癌部組織の相対的発

現量の平均値 $0.49 \pm 0.30$ より有意に高値を示した ( $p < 0.0001$ )。しかしながら、CAII の発現程度といずれの臨床病理学的諸因子との間にも有意な相関性は認められなかった。さらにヒト胃癌細胞株 (MKN28) においても CAII の発現は認められなかった。免疫染色で CAII は正常粘膜胃小窩上皮細胞に強く発現していたが、胃癌組織においてはほとんど発現していなかった。早期癌10例中、9例において CAII の発現消失あるいは著しい低下がみられた。ヒト胃癌細胞株 (MKN28) に CAII 遺伝子を導入したところ、この細胞の形成したコロニー数は $36 \pm 12$ 個であり、Lac-Z、control vector を遺伝子導入した細胞の形成したコロニー数の $228 \pm 33$ 個、 $175 \pm 43$ 個に比べ、その形成がそれぞれ有意 ( $p < 0.001$ ) に低下していた。

#### 【総括】

胃に高い臓器特異性を持ち、正常胃粘膜の上皮細胞に局在していた新規遺伝子 CAII は、今回実験したすべての臨床検体の非癌部胃粘膜で発現が認められた。一方、癌部ではその大部分の症例において発現が著しく低下、もしくは消失していた。ほとんどの早期癌において CAII の発現消失あるいは低下がみられていたことより、この遺伝子変化は胃癌発生のかなり早い段階に起きている可能性が考えられた。また、CAII を遺伝子導入したヒト胃癌細胞株において増殖が抑制されたことから、この新規遺伝子の消失が胃癌発生・進展に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

胃癌は早期癌を除き予後不良で、診断・治療を含め改善すべき点が多く残されている。癌は遺伝子の病気であることが一般的となり、多くの悪性腫瘍でその発生に関与する遺伝子異常が報告されているが、胃癌発生にかかわる分子生物学的機構は未だ不明な点が多く、遺伝子異常の解析が胃癌の病態を理解し、治療成績を向上させるためには重要と考えられる。胃癌患者の癌部、非癌部の組織を用いて行った Differential Display 法により癌部において発現性が低下する新規遺伝子 CAII が同定された。本研究の目的は、新規遺伝子 CAII の胃癌における特性を解明することである。臓器特異性の確認、胃癌臨床検体50例における発現性の検討、抗 CAII 抗体を用いた免疫染色と胃癌細胞株への遺伝子導入により CAII 遺伝子の分子生物学的特性を解析した。

その結果、1) CAII 遺伝子は正常胃に特異的な高発現性を有していた。2) CAII 遺伝子は全ての非癌部組織においてその発現が確認された。3) 約80%の胃癌臨床検体において発現性の低下が認められた。4) CAII の遺伝子産物は正常胃粘膜の被蓋上皮細胞中に認められた。5) 胃癌細胞株に対する遺伝子導入により、CAII は癌細胞の増殖能力を低下させた。以上の結果から、正常な胃粘膜に特異的に存在する CAII 遺伝子は胃の機能維持に関与しており、その胃癌における発現低下は、胃癌発生と関係する可能性が示唆された。

正常胃特異的なこの遺伝子の癌部での発現低下を発見したことは、胃癌の発癌機構解明に進歩をもたらすものと期待されるため、博士 (医学) の学位に値するものと認める。