



Title	DOK2 as a Marker of Poor Prognosis of Patients with Gastric Adenocarcinoma After Curative Resection
Author(s)	宮垣, 博道
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59074
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

〔目的〕

DOK1-3蛋白はbcr/abl蛋白の基質として同定された分子で、Philadelphia染色体を有する慢性骨髓性白血病発症への関与が良く知られている。これらDOK1-3蛋白は、EGFRやHER2/Neuなどの様々な膜型チロシンキナーゼの細胞内結合蛋白で、下流シグナルの負の調整因子として機能していることが報告されている。今まで免疫系細胞における報告は多くみられるが、上皮系細胞や固形癌に関する報告はなかった。しかし、近年、DOK1-3のノックアウトマウスにおいて肺腺癌の発生が報告され、肺癌臨床検体においてもDOK2遺伝子領域のゲノム数低下を認め、DOK2遺伝子が肺腺癌の癌抑制遺伝子であることが示唆された。そこで我々は胃癌におけるDOK2発現と臨床的意義およびDOK2遺伝子のゲノム数を検討した。

〔方法〕

① 胃癌切除症例6例の胃切除標本の非癌部より、レーザーマイクロダイセクション法にて正常胃粘膜細胞を採取し、Total RNAを精製した。また、胃癌細胞株(T)7種(MKN74, MKN45, MKN45p, MKN7, NUGC3, RERFGC1B, AGS)をRPM1640(10%FBS)にて培養し、それら細胞株よりTotal RNAを精製した。それぞれのTotal RNAサンプルにおいて、DOK1-3のmRNA発現を定性的PCR法にて評価した。② 大阪大学消化器外科において2001年10月から2004年3月に治癒切除施行され病期I-IIIと診断された118例を対象に、ホルマリン固定された手術切除標本に対する免疫組織染色により、胃癌原発巣および非癌部の正常胃粘膜組織のDOK2蛋白発現を評価した。また、その118例より粘膜下層(SS)以深浸潤症例30例を無作為に抽出し、凍結切除サンプルより精製したTotal RNAを用いて、定量的PCR法によるDOK2遺伝子発現と、DOK2蛋白発現を比較した。さらに、DOK2発現と臨床病理学的因子との相関および予後を解析した。③ 前述した30例において、DOK2の遺伝子座近傍のD8S560サテライトマーカーに対して、定性的PCR法を施行し、電気泳動によりLoss of heterozygosity(LOH)を評価、DOK2発現との関連性を検討した。

〔成績〕

① 定量的PCR法により、DOK1は、全ての正常粘膜・胃癌細胞株で発現を認めたのに対し、DOK3はいずれにおいても発現を認めなかった。一方、DOK2は正常粘膜で発現を認めたが、胃癌細胞株での発現は種類によって異なり、AGS, MKN7で強発現、MKN74, MKN45, NUGC3では中等度の発現を認め、MKN45P, RERFGC1Bでは発現を認めなかつた。② DOK2蛋白発現は、正常粘膜では全例で発現を認めた。胃癌原発巣では118例中59例(50%)でDOK2発現を認め、59例(50%)で発現を認めなかつた。同一症例の癌巣における不均一性(Heterogeneity)は認められなかつた。DOK蛋白発現は正常粘膜細胞でも癌細胞でも、細胞質に認められた。DOK2陰性症例は陽性症例と比較し、有意にmRNA発現の低下を認め、免疫染色法によるDOK2蛋白発現とmRNAは相関性を認めた(fold change 5.34, p<0.001)。臨床病理学的因子との解析では、DOK2陰性症例は、陽性症例と比較し、高・中分化型症例に有意に多かつた(P=0.001)。また、予後解析では、DOK2陽性症例は全生存期間と無再発生存期間の両方において有意に良好であった(5年生存率、76.4% vs. 59.1%, p=0.040, 5年無再発生存率、73.0% vs. 58.1%, p=0.033)。単変量・多変量解析により、病理学的T因子および病理学的N因子とともに、DOK2陰性は独立予後因子であった。(HR=2.343, 95%CI=1.211-4.727, P=0.01) ③ LOH解析で、DOK2陰性11症例中6例(54.5%)にLOHを認め、DOK2陽性12例では、認めなかつた。同型接合性(Homozygosity)のため7例は、評価不能であった。

〔総括〕

DOK2は胃癌の再発、予後に関連した生物学的悪性度の指標となる新しいマーカーになることが明らかになった。

[97]

氏名	宮垣博道
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第25143号
学位授与年月日	平成24年3月22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臨床医学専攻
学位論文名	DOK2 as a Marker of Poor Prognosis of Patients with Gastric Adenocarcinoma After Curative Resection (DOK2は胃癌治癒切除後の新規予後予測因子である)
論文審査委員 (主査)	教授 土岐祐一郎
教 授 (副査)	教授 青笹克之 教授 猪原秀典

さらに、DOK2蛋白発現の低下は、遺伝子のゲノム数の低下と強い関連を認め、haploinsufficientな胃癌抑制遺伝子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】DOK1-3蛋白はbcr/abl蛋白の基質として同定された分子で、CMLへの関与が良く知られている。DOK1-3蛋白は、EGFRやHER2/Neuなどの様々な膜型チロシンキナーゼ受容体の細胞内結合蛋白で、下流シグナルの負の調整因子として機能。今まで固形癌における報告はなかったが、近年、肺腺癌発生の関与が示唆された。【方法と成績】正常胃粘膜細胞(N)6例と、胃癌細胞株(T)7種で、DOK1-3の遺伝子発現をPCR法で評価、DOK1は、全てのNとTで発現を認め、DOK3は発現を認めなかつた。一方、DOK2はNで発現を認めたが、Tでの発現は種類によって異なつた。②治癒切除施行された胃癌118例を対象に、臨床病理学的因子との解析では、DOK2陰性症例が、高・中分化型症例に有意に多かつた。また、DOK2陽性症例は全生存期間と無再発生存期間の両方において有意に良好であった。単変量・多変量解析により、DOK2陰性は独立予後因子ということが明らかとなつた。LOH解析の結果、DOK2陰性の54.5%にLOHを認め、DOK2陽性では、認めなかつた。【結語】DOK2は新規予後予測因子となるが明らかになった。さらに、DOK2遺伝子は、haploinsufficientな胃癌抑制遺伝子である可能性が示唆された。

以上の功績は、博士(医学)の学位授与に値する