OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Prognostic Value of Trefoil Factor 3 Expression in Patients with Gastric Cancer
Author(s)	谷口, 嘉毅
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73485
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　谷口　嘉毅

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	土岐祐一郎
副　査	大阪大学教授	野々村祝夫
副　査	大阪大学教授	森井英一

論文審査の結果の要旨

近年悪性腫瘍において様々な分子標的薬が開発され臨床応用されているが、胃癌においても更なる治療開発のために癌の予後や悪性度と相関する新たなバイオマーカーの探索が重要である。本研究ではTrefoil factor 3(TFF3)に着目し、一連の解析を行った。胃癌手術を受ける患者の胃切除組織および術前血清を用いて胃癌細胞でのTFF3発現の確認と血清TFF3濃度の測定を行ったところ、TFF3免疫染色の陽性群は陰性群に比べ深達度が深く、リンパ節転移が多く、術前TFF3血清濃度が高く、無再発生存期間が不良であった。一方血清TFF3濃度の高値群は低値群に比べて深達度やリンパ節転移の程度に差はなかったものの、無再発生存期間が不良であり、多変量解析にて術前血清TFF3濃度高値は独立した予後不良因子であった。さらに胃癌細胞におけるTFF3ノックダウン株はcontrol株と比べ細胞増殖能および浸潤能が抑制された。本論文はTFF3が胃癌患者の予後予測因子として有用であり、治療標的となりうる可能性を示したものであり、学位の授与に値する成果と認める。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	谷口　嘉毅
論文題名 Title	Prognostic Value of Trefoil Factor 3 Expression in Patients with Gastric Cancer (胃癌患者におけるTrefoil Factor 3発現の予後予測因子としての有用性)

論文内容の要旨

〔目　的〕

胃癌は現在世界で5番目に罹患数の多い悪性疾患である。胃癌に対する外科的治療の発展が進む一方で、依然生命予後は診断・治療時の病期に大きく影響を受けており、胃癌早期診断につながる新規バイオマーカーの開発が胃癌患者の死亡率減少に寄与するとして期待されている。Trefoil factor 3(以下TFF3)は主に小腸や大腸などの消化管の杯細胞に発現する低分子量の分泌蛋白であり、これまで消化管粘膜層の維持と修復機能としての役割を担っていると報告されてきた。近年ではTFF3は正常な胃には発現しておらず、胃癌細胞で発現していることが報告されており、胃癌早期診断における血清TFF3濃度の有用性が期待されている。一方でTFF3の予後予測因子としての有用性や癌細胞における役割については明らかになっていない。本研究では胃癌細胞におけるTFF3の発現が血清TFF3濃度と関連しているかどうか、術前血清TFF3濃度が胃癌手術を受ける患者の予後予測因子として有用であるかどうか、TFF3が癌細胞の増殖と浸潤に影響を与えるかどうか、さらにはTFF3の下流シグナルにどのような蛋白発現が関与しているか検討した。

〔方法〕

Clinical sample：2012年4月から2015年4月までの間に当院で胃癌に対して胃切除術(R0)を施行された胃癌患者のうち胃切除組織と術前血清が保管されている111人を対象にした。胃切除組織を抗TFF3抗体で免疫染色し、胃癌細胞における染色強度と染色陽性割合を総合的にスコアリングし、全患者をTFF3発現の陽性群と陰性群の二群に分類し、臨床病理学的因子、術前血清TFF3濃度、無再発生存期間を比較検討した。またELISA法にて術前血清TFF3濃度を測定し、第3四分位数(TFF3濃度:17.5ng/dl)をcut off値として高値群と低値群の二群に分類し、臨床病理学的因子、無再発生存期間を比較検討した。さらにCox多変量解析でTFF3発現および術前血清TFF3濃度が無再発生存期間のリスク因子であるかどうか検討した。

In vitro：ヒト胃癌細胞株MKN45、AGS、NUGC-3、NCI-N87、OCUM-1、KATOⅢを用いてqRT-PCRを施行し、TFF3発現の比較的強い細胞株を同定した。その細胞株にshRNA発現レンチウイルスベクターを用いて、TFF3ノックダウン株を作成し、細胞増殖能および浸潤能をcontrol株と比較検討した(Proliferation assay、Invasion assay)。さらにTFF3発現の強弱がpSTAT3、pMAPKの蛋白発現に影響を与えるかWestern blottingを行いTFF3ノックダウン株とcontrol株で比較検討した。

〔成績〕

Clinical sample：TFF3発現陽性群(n=58)は陰性群(n=53)と比べ年齢、性別、組織型に明らかな差がなかったものの、深達度が深く(P=0.024)、リンパ節転移が多く(P=0.008)、術前血清TFF3濃度が高く(P=0.013)、無再発生存期間が不良であった(P=0.002)。一方、術前血清TFF3濃度の高値群(n=27)は低値群(n=84)と比べ性別や深達度やリンパ節転移に明らかな差は認めなかったものの、高年齢であり(P=0.003)、分化型が多く(P=0.013)、無再発生存期間が不良であった(P=0.003)。Cox多変量解析の結果、TFF3発現は独立した予後予測因子でなかったのに対し、術前血清TFF3濃度高値(TFF3濃度>17.5ng/ml)は深達度とならび独立した予後不良因子であった(P=0.024)。

In vitro：6種のヒト胃癌細胞株のうちMKN45におけるTFF3のmRNA発現量を1.00とした場合、OCUM-1、KATOⅢにおけるTFF3のmRNA発現量は11.37、9.14とTFF3発現を強く認めた(P<0.001)。これら2種の細胞株のTFF3ノックダウン株はcontrol株と比べ細胞増殖および浸潤が抑制された。またOCUM1ではTFF3ノックダウンによりpSTAT3およびpMAPKの蛋白発現に明らかな差は認めなかった。一方KATOⅢではTFF3のノックダウンによりpMAPKの発現に明らかな差は認めなかったもののpSTAT3の発現が抑制された。

〔総　括〕

術前血清TFF3濃度は胃癌細胞におけるTFF3発現に相関して上昇し、胃癌患者における予後予測因子として有用である可能性が示唆された。TFF3は胃癌細胞の増殖および浸潤を促進する可能性が示唆された。