

審査の結果の要旨

氏名 高橋 悠

本研究は胃癌の予後と関連する組織型の決定に関わると考えられる細胞間接着因子の発現異常について明らかにするために、胃癌切除検体を用いた免疫染色、及び胃癌由来細胞株を用いた系で細胞接着因子の一つである *nectin1* の発現異常について解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 17種類の胃癌由来細胞株において *nectin1* の発現について RT-PCR で解析を行ったところ 17種類全てで *nectin1* の発現が認められた。正常組織由来の RNA では胃や腸では発現が認められた一方で、肝臓・骨格筋では発現が低下していた。
2. 胃癌切除検体における非癌部において anti-*nectin1* 抗体を用いて組織免疫染色を行った。正常胃腺窩上皮では *nectin1* は細胞接着部位の最も管腔側に限局して発現していた一方で、胃腸上皮化生部位では管腔面に一様に発現を認めた。
3. 胃癌切除検体において anti-*nectin1* 抗体を用いて組織免疫染色を施行し、HE 染色により pap, tub1, tub2, por, sig, muc の組織型に分類しそれぞれの組織型における *nectin1* の細胞膜発現について解析したところ、pap では 17 症例中 9 例で、tub1 では 62 症例中 48 例で、tub2 では 37 症例中 19 例で、por では 38 症例中 4 例で、sig では 13 症例中 0 例で、muc では 3 症例中 1 例で *nectin1* の発現が認められた。pap, tub1, tub2 を intestinal type、por, sig, muc を diffuse type に分類して解析すると intestinal type では 116 症例中 76 例で、diffuse type では 54 症例中 5 例で陽性となり、intestinal type で *nectin1* の細胞膜発現が有意に多い結果であった ( $P < 0.0001$ )。
4. 胃癌由来細胞株において「細胞全体」と「核を単離」したものからそれぞれタンパク質を抽出して anti-*nectin1* 抗体を使用して western blotting を行ったところ、核を単離したものでは細胞株全体のものとは比べて *nectin1* の強い発現を認めた。また胃癌切除検体においても全 170 症例中 28 例で核が染色されているものを認めた。
5. 胃癌由来細胞に *nectin1 isoform1* をレトロウイルスベクターにより導入したところ、蛍光免疫染色で細胞膜での発現が確認された。*Nectin1 isoform1* の導入により癌化能に変化があるかどうか軟寒天培地上でのコロニー形成法により解析を行ったが MKN45、AGS、MKN1、KE39、GCIY では有意な癌化能の差を認めなかった。

以上、本論文は *nectin1* の発現と胃癌の組織型との間に関連があることを明らかにした。本研究はこれまで報告のなかった、細胞接着の初期に働く *nectin family* の発現異常と胃癌

の組織型との間に関連があることを示し、胃癌の組織型決定に関わる因子の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。