

本研究は炎症・免疫関連分子のうち、腫瘍免疫抑制に働く PD-L1 と炎症制御に関わる inflammasome の構成タンパクの一つである NLRP3 に着目して、胃癌の分子生物学的サブタイプごとに発現を比較・検討し両分子の発現意義の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 公開データベースから TCGA の胃癌の PD-L1 mRNA データを引用して解析して分子生物学的サブタイプごとの PD-L1 mRNA の発現を検討したところ、EBV 関連胃癌はその他の 3 型(マイクロサテライト不安定性胃癌、ゲノム安定型胃癌、染色体不安定性胃癌)よりも PD-L1 mRNA の発現が高かった。
2. 胃癌手術検体 232 例(EBV 関連胃癌 96 例、マイクロサテライト不安定性胃癌 36 例、ゲノム安定型(びまん型)胃癌 50 例、染色体不安定性(腸型)胃癌 50 例)の whole section 標本を用いて PD-L1 発現を免疫組織化学的に検索したところ、EBV 関連胃癌では腫瘍細胞及び間質の免疫細胞の PD-L1 発現が高率であること、そしていずれの発現も深部浸潤傾向と相関することが明らかになった。さらに EBV 関連胃癌の腫瘍細胞の PD-L1 発現は予後不良と有意に相関していた。
3. EBV 関連胃癌の粘膜下層以深に浸潤する 77 例について PD-1 と CD8 の免疫組織化学的検討を行ったところ、腫瘍周囲の間質の免疫細胞の PD-1 発現および CD8 発現は腫瘍細胞の PD-L1 発現と有意に相関していた。
4. EBV 関連胃癌 44 例の TMA 標本に対して *PD-L1* 遺伝子の Fluorescence in situ hybridization (FISH) を行い免疫組織化学的検討の結果と併せて検討したところ、44 例中 5 例(11.4%)に遺伝子増幅が確認され、これらの症例はいずれも免疫組織学的に PD-L1 を強く発現していた。whole section 標本を用いた検討を追加したところ強陽性領域のみに遺伝子増幅が認められ、腫瘍内の一部のクローンのみに遺伝子増幅が生じていることが明らかになった。
5. 胃癌手術検体 212 例(EBV 関連胃癌 6 例、マイクロサテライト不安定性胃癌 18 例、ゲノム安定型(びまん型)胃癌 102 例、染色体不安定性(腸型)胃癌 86 例)の TMA 標本を用いて NLRP3 発現を免疫組織化学的に検索したところ、ゲノム安定型(びまん型)胃癌で NLRP3 発現は腫瘍径、進行度、静脈侵襲、リンパ管侵襲、リンパ節転移と有意に相関し、有意に予後不良であった。
6. 胃癌培養細胞株に NLRP3 に対する siRNA あるいは NLRP3 発現 vector を導入して遊走能を評価した (transwell assay, scratch assay) ところ、NLRP3 発現は細胞遊走と正の相関関係にあることが明らかになった。
7. NLRP3 siRNA の導入による遺伝子発現変化を解析するためマイクロアレイによる mRNA 発現解析を行ったところ、NLRP3 が遊走を制御する過程に S100A8 の関与が示唆された。NLRP3 過剰発現後に S100A8 に対する siRNA を導入して遊走能を評価したところ、S100A8 発現抑制下でも NLRP3 過剰発現によって S100A8 の増加を伴った遊走能の回復がみられ、NLRP3 は S100A8 の制御を介して細胞遊走能を高めることが示唆された。

以上、本論文は免疫・炎症関連分子である PD-L1 と NLRP3 がそれぞれ EBV 関連胃癌とゲノム安定型(びまん型)胃癌において癌の進展に重要な役割を果たしていることが明らかになり、今後の胃癌の研究において分子生物学的サブタイプ別に検討する重要性を示した。本研究はより特異的・効果的な胃癌治療に貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものである。