

主論文の要旨

Epithelial - to - Mesenchymal Transition Predicts Prognosis in Clinical Gastric Cancer

〔 胃癌において上皮間葉系転換は予後予測因子となり得る 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 消化器外科学分野

(指導：小寺 泰弘 教授)

村井 俊文

【背景と目的】

胃癌は消化器癌の中でも比較的頻度の高い疾患の一つであり、全悪性疾患においては罹患率が第4位、癌関連死因としては第2位である。また、1/3の胃癌患者は診断時においてすでに遠隔転移を有しており、その予後は極めて不良である。

近年、癌の浸潤・転移には上皮間葉系転換 (Epithelial-to-Mesenchymal Transition, EMT) の関与が指摘され、積極的に研究がなされている。EMTとは癌において上皮系細胞が間葉系細胞に形態変化をすることであり、この過程において、癌細胞は運動能や浸潤能を獲得する。その際、上皮系マーカー (E-cadherin) の発現は低下し、間葉系マーカー (Vimentin) は上昇する。この現象は種々の癌腫において認識され、癌の浸潤・転移において深く関与していると言われている。

EMTを制御する因子の存在が指摘されているが、胃癌におけるEMT転写因子には、Snail, Slug, Twist, Zeb-1, Zeb-2と種々の報告があるものの、一定の見解はいまだに得られておらず、またその多くの報告は細胞株を用いて行われている。

今回我々は、当教室にて外科的切除を施行した胃癌臨床検体を用い、EMT statusを定義かつ決定し、臨床病理学的因子、予後との相関を統計学的に解析した。また、EMTの転写因子においても、細胞株だけでなく臨床検体を用いて検討した。

【対象・方法】

11種類の胃癌細胞株を用い、E-cadherin、Vimentin、さらに5種類の転写因子 (Snail, Slug, Twist, Zeb-1, Zeb-2) の発現を定量PCR法により調べた。そのうち、間葉系細胞株との相関を認めたZeb-1に対して、間葉系細胞株であるMKN1に対し、siRNAの手法によりZeb-1の発現抑制を行った。さらに、Zeb-1抑制株と親株において、増殖能 (cell counting assay)、遊走能 (wound - healing assay)、浸潤能 (Matrigel invasion assays) を検討した。最後に、胃癌切除検体116例において定量PCR法を施行し、Vimentin/E-cadherinの発現比により間葉系群と上皮系群に二分し、また、同様にZeb-1の発現の多寡により高発現群と低発現群に二分し、臨床病理学的因子、予後との相関を解析した。

【結果】

胃癌細胞株におけるEMT

11種類の胃癌細胞株において、E-cadherinを高発現し、Vimentinが低発現であった7種類の細胞を上皮系細胞株、Vimentinを高発現し、E-cadherinが低発現であった4種類の細胞を間葉系細胞株に分類した。

胃癌細胞株におけるEMT転写因子

胃癌細胞株のうち、間葉系細胞株はZeb-1を高発現しており、Vimentin/E-cadherin比 (以下、V/E比) とZeb-1の発現の間には、統計学的に有意な相関を認めた ($r=0.71$, $P=0.015$)。

Zeb-1 発現と細胞増殖能、遊走能、浸潤能

間葉系細胞株である MKN1 において、Zeb-1 抑制株は親株と比較して E-cadherin の発現が増強し、Vimentin の発現は減弱した (Fig.1A)。また Zeb-1 抑制株は親株と比較して有意に増殖能、遊走能、浸潤能が減弱した (Fig.1B,1C,1D)。

胃癌における EMT の臨床的意義

116 例の胃癌臨床検体において、定量 PCR 法による Vimentin/E-cadherin の発現比により、間葉系群：30 例、上皮系群：86 例と分類された。間葉系群は上皮系群と比較して有意に予後不良であった ($P=0.013$) (Fig.2A)。また、臨床病理学的因子との相関を検討すると、間葉系群では diffuse type ($P=0.0002$)、Stage IV 症例 ($P=0.046$) を有意に多く認めた (Table I)。

胃癌における Zeb-1 発現の臨床的意義

116 例の胃癌臨床検体において、Zeb-1 高発現群：32 例、低発現群：84 例と二分すると、Zeb-1 高発現群は有意に予後不良であった ($P=0.0071$) (Fig.2B)。また、臨床病理学的因子との相関を検討すると、Zeb-1 高発現群には低年齢 (63 才未満) ($P=0.036$)、diffuse type ($P=0.035$)、リンパ節転移 16 個以上 ($P=0.018$) を有意に多く認めた (Fig.2B)。さらに、V/E 比と Zeb-1 の発現との間には有意な相関を認めた ($r=0.727$ 、 $P < 0.0001$) (Fig.2C)。

胃癌における EMT status と予後の相関

多変量解析においては、腫瘍径 (≥ 65 mm) ($P=0.027$)、壁深達度 T3 以上 ($P=0.0098$)、腹腔洗浄細胞診陽性 ($P=0.0028$) とともに、EMT status (間葉系群) ($P=0.022$) は独立予後規定因子であった (Table III)。

【考察】

当教室における胃癌臨床検体において、EMT と臨床病理学的因子、予後との相関を検討するために、上皮系マーカーである E-cadherin、間葉系マーカーである Vimentin の発現比を用い、EMT status を定義した。その結果、間葉系群は上皮系群と比較して有意に予後不良であり、臨床病理学的因子である、diffuse type、Stage IV と有意な相関を示した。さらに、Zeb-1 高発現群は低発現群と比較して有意に予後不良であり、臨床病理学的因子である、低年齢、diffuse type、リンパ節転移数と有意な相関を示した。また、この EMT status は独立予後因子であった。本結果により、胃癌においても EMT が腫瘍の浸潤、転移に深く関与していることが示唆された。

胃癌細胞株における機能解析においては、Zeb-1 抑制株において E-cadherin が発現し、Vimentin の発現は減弱した。Zeb-1 抑制株は親株と比較し、増殖能、遊走能、浸潤能が有意に減弱した。以上の結果より、Zeb-1 は EMT 制御における有力な転写因子と考えられ、Zeb-1 を knockdown することにより、Mesenchymal-to-Epithelial Transition

(MET) を誘導していると考えられた。従って、Zeb-1 を制御することが進行胃癌の予後を改善させる可能性が示唆された。

【結語】

胃癌細胞株と同様に胃癌臨床検体においても、EMT は胃癌の浸潤や転移と関連していると考えられた。また、Zeb-1 は有力な EMT 制御因子であると考えられ、かつ、予後規定因子である可能性が示唆された。