

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462041

研究課題名(和文) 胃癌におけるイノシトール3リン酸(IP3)受容体発現と臨床的意義の検討

研究課題名(英文) Expression of Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors (InsP3Rs) in gastric cancer patients

研究代表者

柴尾 和徳 (SHIBAO, Kazunori)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：10330987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：イノシトール3リン酸レセプター(IP3Rs)には1型から3型の3種類のサブタイプが存在しているが、ヒト胃癌組織における検討はなされていないので今回検討した。1型IP3Rは上皮(非癌部、癌部)で発現していなかった。2型IP3Rは非癌部では胃底腺領域に発現し、癌部でも様々な程度で発現を認めた。3型IP3Rは非癌部では胃小窩の頂端膜側(apical membrane)に発現し、癌部では様々な程度で発現を認めた。生存分析で3型IP3Rは予後規定因子とならなかったが、2型IP3RはTNM分類と共に独立した予後規定因子となった。IP3R発現はヒトがん治療における新しいターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (InsP3R) mediates Ca²⁺ signaling in epithelia and regulates cellular functions. Expression of all three InsP3R isoforms was evaluated in tissue from gastric mucosal and carcinomas surgically resected from 77 patients. Type 1 InsP3R was not seen in both normal gastric mucosa and gastric cancer. Dense apical localization of type 2 InsP3R was seen in gastric fundus gland. Various level of type 2 InsP3R was observed in cancer cells. Dense apical localization of type 3 InsP3 receptor was seen in gastric pits. Various level of type 3 InsP3R was seen in gastric cancer. No correlation between type 3 InsP3 receptor expression and prognosis was observed in gastric cancer patients. Meanwhile, heavier expression of type 2 InsP3R also was associated with decreased 5-year survival. Type 2 InsP3R expression is a novel and useful indicator of prognosis in patients with gastric cancer.

研究分野：消化器外科

キーワード：IP3 レセプター カルシウムシグナリング 細胞増殖 胃癌

1. 研究開始当初の背景

イノシトール3リン酸レセプター (IP3R) は滑面小胞体の細胞膜に存在し、細胞内へのカルシウム放出に関与している。細胞内カルシウムシグナリングは重要な細胞機能に関与しているため、IP3R の発現もまた細胞機能に深く関与しており、アポトーシスや細胞増殖、分化との関連も示唆されている。IP3R には1型から3型の3種類のサブタイプが存在し、胆汁うっ滞性疾患で発現が減少するなど病因との関係が明らかになってきているが、胃癌を含めたヒト癌組織におけるIP3R 発現の意義については未だ検討されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、胃癌切除標本、ヒト癌細胞株を用いて、IP3R 発現の意義について検討し、IP3R が新たな治療ターゲットとなり得るか否か検討することである。

3. 研究の方法

- (1) 当科で手術を施行し、予後調査を施行した胃癌切除症例 77 例を対象とした。
- (2) ホルマリン固定パラフィン切片で1型、2型、3型 IP3R 蛋白に対する抗体を用いて免疫組織化学染色をし、細胞内分布を検討した。
- (3) 予後の判明している胃癌症例 (77 例) のホルマリン固定パラフィン切片で2, 3型 IP3R 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、臨床病理学的に検討。IP3R 発現と既知の予後規定因子との相関、独立した予後因子であるかを単変量解析、多変量解析、生存分析 (Kaplan-Meier 法) で統計学的に検討した。

4. 研究成果

(1) 免疫組織染色

免疫組織学的に評価し、臨床病理学的解析を加え検討した。1型 IP3R は上皮 (非癌部、癌部) で発現していなかった。

2型 IP3R は非癌部では胃底腺領域に発現しており、癌部でも様々な程度で発現を認めた (図1-3)。

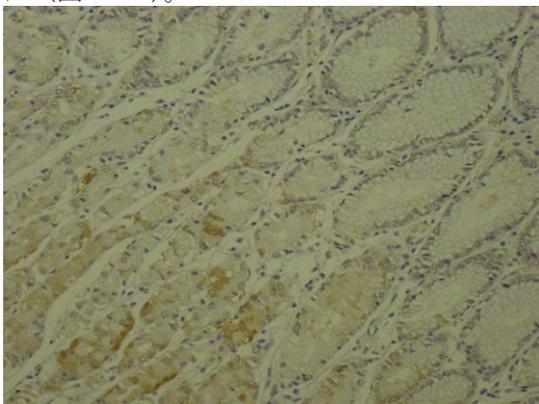


図1：正常粘膜における2型 IP3R 発現

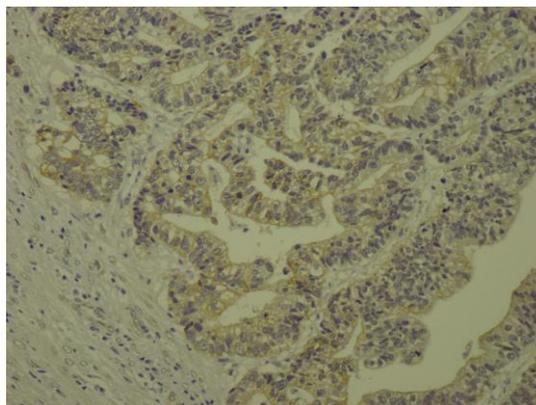


図2：胃癌における2型 IP3R 強発現例

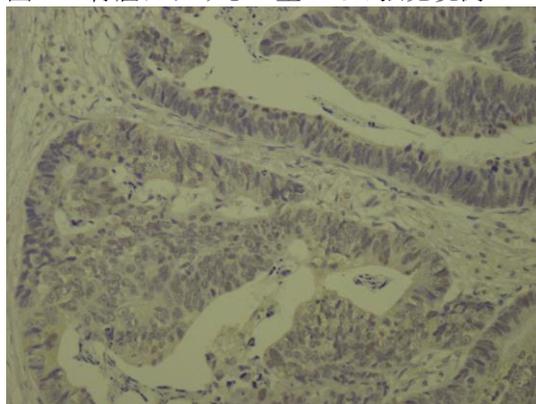


図3：胃癌における2型 IP3R 弱発現例

3型 IP3R は非癌部では胃小窩の頂端膜側 (apical membrane) に発現しており、癌部では様々な程度で発現を認めた (図4-6)。

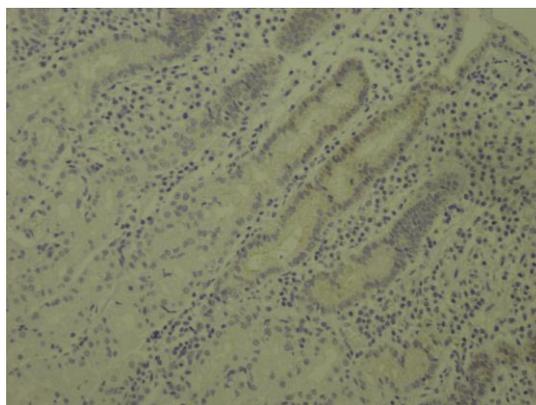


図4：正常粘膜における3型 IP3R 発現

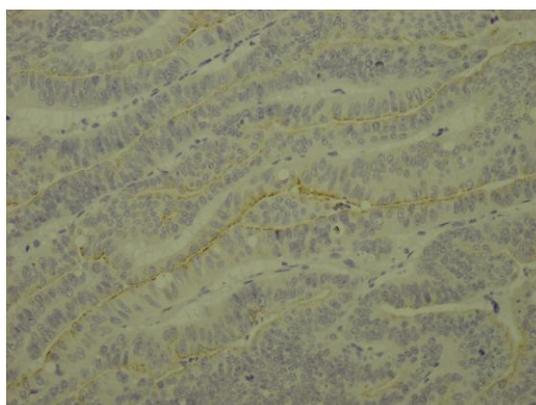


図 5 : 胃癌における 3 型 IP3R 強発現例

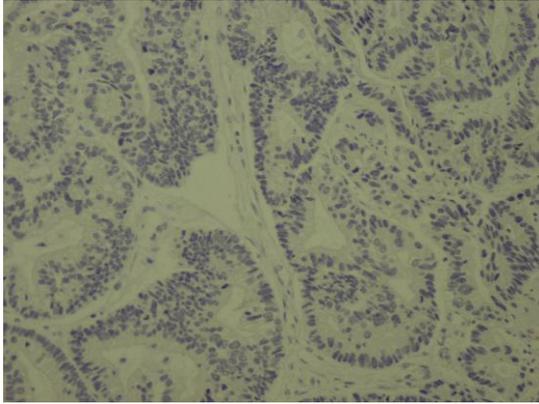


図 6 : 胃癌における 3 型 IP3R 弱発現例

(2) 癌部における IP3R 発現と臨床病理学的因子との検討

癌部において各 IP3R 強発現群と弱発現群の 2 群に分け、各 IP3R 発現と臨床病理学的因子との相関を検討した。1 型、2 型、3 型 IP3R は腫瘍進達度、遠隔転移などに関連を認めなかった。

(3) 癌部における IP3R 発現と予後との検討

1、3 型 IP3R は予後規定因子とならず、Kaplan-Miere 法でも生存率に差はみとめなかった(図 8)。しかしながら、2 型 IP3R は単変量解析で予後規定因子となり、多変量解析でも TNM 分類と共に独立した予後規定因子となった。Kaplan-Miere 法においても 2 型 IP3R 強発現群は低発現群に比べ予後不良であった(Log Rank test: $p=0.008$, 図 7)。

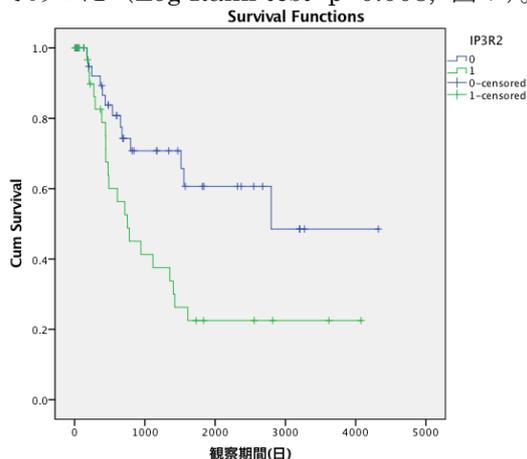


図 7 : 2 型 IP3R 発現と予後

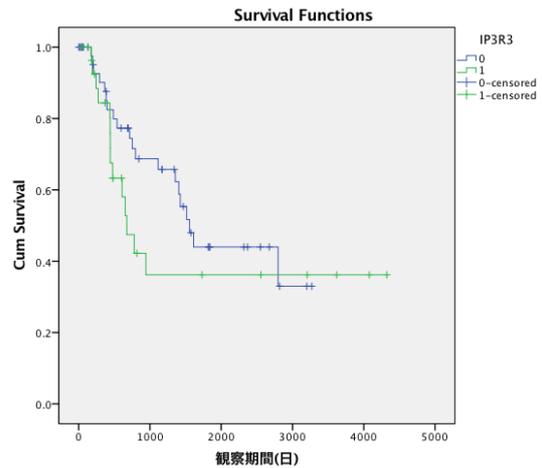


図 8 : 3 型 IP3R 発現と予後

また、細胞増殖マーカー、アポトーシス関連蛋白など多数の免疫組織学的検討も施行済みで現在、引き続き解析を進めている。

凍結手術切除組織を用いたウェスタンブロットも施行したが、他の癌組織に比べ胃癌組織は低分化型の癌が多く、非癌部との境界が明らかでない。そのため凍結組織ブロックを用いた解析結果の解釈には注意が必要である。ノーザンブロット解析、RT-PCR など胃癌組織を用いた解析も同様の影響が考えられるため、より精度の高い結果を得るマイクロダイセクションなどの導入を含め検討中である。

以上の結果より、IP3R 発現はヒトがん治療における新しいターゲットとなる可能性が示唆されたため、今後学会、雑誌等で発表予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴尾和徳 (SHIBAO, Kazunori)
産業医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10330987

(2) 研究分担者

日暮愛一郎 (HIGURE, Aiichiro)
産業医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号：20289581

(3) 連携研究者

又吉信貴 (MATAYOSHI, Nobutaka)
産業医科大学・医学部・非常勤医師
研究者番号：00721630