

氏 名

河津 雄一郎

論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)

The combination of strong expression of ZNF143 and high MIB-1 labelling index independently predicts shorter disease-specific survival in lung adenocarcinoma (ZNF143 強発現と MIB-1 labelling index 高値を組み合わせることで、肺腺癌の術後生存期間の短縮を予測し得る)

論文要旨





【目的】肺腺癌は致死性の高い肺癌の中でも最も多い組織型であるが、病理組織学的に stage I で完全切除がなされていても再発率が高い。そのため、予後に密接に関連する生物学的マーカーを発見することの意義は高い。一方、転写因子 ZNF143 は先行研究で、様々な固形癌や cisplatin 耐性細胞において高発現しており、多くの DNA 複製・修復関連遺伝子と細胞周期関連遺伝子を制御していることが明らかとなっている。しかし、臨床試料において、ZNF143 単独、さらに細胞増殖マーカーとして汎用されている Ki67(MIB-1) と ZNF143 とを組み合わせた *in vivo* 研究は、これまで存在しないことから、肺腺癌手術症例における ZNF143 発現の臨床病理学的特徴を明らかにし、予後との関連について調査した。

【方法】産業医科大学病院において肺腺癌のために手術をした 183 人の患者を対象として臨床情報を収集し、病理組織を調査・検討した。ZNF143 に特徴的な 2 カ所のアミノ酸配列から作成した合成ペプチドにより、New Zealand white rabbits を免疫して得られた特異的抗 ZNF143 ポリクローナル抗体を用い、免疫組織化学染色を行った。腫瘍内 ZNF143 陽性エリアの割合によって、30%をカットオフ値とし強発現と弱発現に分けた。MIB-1 labelling index (以下 MIB-1 LI) は、10%をカットオフ値として、高発現と低発現に分けた。免疫組織化学的発現と臨床病理学的因子間の関連性は χ^2 二乗検定で計算した。免疫組織化学的発現と疾患特異的生存率について、Kaplan-Meier 法で生存曲線を描いて log-rank test で比較し、Cox 比例ハザードモデルで単変量および多変量解析により検討した。

【結果】ZNF143 は核内にのみ発現しており、131 例(71.6%)で弱く、52 例(28.4%)で強く発現していた。ZNF143 強発現は中・低分化、高浸潤性サブタイプ、MIB-1 LI 高値と有意に相関していた。また ZNF143 単独では Kaplan-Meier 分析で疾患特異的術後生存期間中央値 (以下、術後生存期間) は弱発現(72.2 月)と比べて強発現(58.7 月)で有意($P=0.03$)に短かった。MIB-1 も核内にのみ発現しており、MIB-1 LI は高分化、前・低浸潤性サブタイプにおいては低く、反対に、特に腫瘍巣の辺縁部において、中・低分化、高浸潤性サブタイプにおいては高かった。また、MIB-1 LI 単独では、高いもの(61.9 月)は、低いもの(71.6 月)と比べて術後生存期間が有意に短かった ($P=0.001$)。ZNF143/MIB-1 LI の発現パターンを強弱/高低で 4 群に分類して、各群の術後生存期間を Kaplan-Meier 法で比較すると、弱/低と強/低($P=0.92$)、弱/低と弱/高($P=0.15$)との間には有意差は無く、弱/高と強/低にも有意差は無かった($P=0.33$)。しかし、強/高とその他を比較すると、前者は 48.4 月、後者は 72.1 月と顕著な有意差がみられた($P<0.0001$)。次に、Cox 比例ハザードモデルで検討すると、ZNF143/MIB-1 が強/高の組み合わせは単変量解析($P<0.001$)および多変量解析($P=0.050$)で独立した予後規定因子であった。

【考察および結論】 ZNF143 は、*in vitro* の様々な先行研究によって癌の増殖だけでなく化学療法時の癌細胞の生存においても非常に重要な役割を果たしていることが示唆されていた。本研究では、肺腺癌における ZNF143 強発現は、病理組織学的に低分化かつ高い浸潤能を示す腫瘍増殖マーカーであることが示されるとともに、術後生存期間の有意な短縮も認められたため、*in vitro* の先行研究の知見を、初めて臨床試料(*in vivo*)において裏づけられる結果となった。また、ZNF143 をノックダウンすると、G1 ではなく G2/M 細胞周期停止の後に強力にアポトーシスを誘導することから、今後の研究によって ZNF143 を治療標的とする肺腺癌治療を開発することができれば、副作用の少ない治療法となることが大いに期待される。一方、ZNF143 強発現と細胞増殖マーカーとして汎用されている MIB-1 LI 高値との間に有意な相関($P=0.001$)が見られ、かつ、ZNF143 強発現と MIB-1 LI 高値を組み合わせることによって、顕著な術後生存期間の短縮が認められた。そこで両者の関係を検討したところ、興味深いことに、明らかな補完的関係も競合的關係も見出せなかった。したがって、この二つの細胞増殖マーカーは、増殖能の高い肺腺癌では同時発現しているものの、それぞれ独立して機能している可能性が高い。また、ZNF143 強発現/MIB-1 LI 高値の組み合わせは、多変量解析により交絡因子を調整しても、独立した予後規定因子であった。よって、両者の組み合わせは肺腺癌の高い増殖活性と予後不良を独立して予測することができる大変有力な因子であるといえよう。

学位論文審査結果要旨

氏 名	河津 雄一郎			
論文審査委員	主査 所属	生体情報系	病態情報部門	鈴木 秀明 
	副査 所属	環境・産業生態系	環境生態部門	川本 俊弘 
		環境・産業生態系	環境生態部門	高橋 謙 
		系	部門	
論文題目				
The combination of strong expression of ZNF143 and high MIB-1 labelling index independently predicts shorter disease-specific survival in lung adenocarcinoma (ZNF143 強発現と MIB-1 labelling index 高値を組み合わせること で肺腺癌の術後生存期間の短縮を予測し得る)				
学位論文審査結果要旨				
<p>肺癌は、本邦における悪性腫瘍のなかで最も死亡者数の多い疾患であり、その組織型の約 7 割を腺癌が占めている。本疾患では臨床病期が stage I で病理組織学的に完全切除されていても再発率は高い。そのため、予後に密接に関連する生物学的マーカーの意義は高い。1998 年に発見された転写因子 ZNF143 は細胞周期関連遺伝子を制御しており、先行研究で、種々の固形癌や cisplatin 耐性細胞において高発現しており、多くの DNA 複製・修復関連遺伝子と細胞周期関連遺伝子を制御していることが明らかとなっている。しかし、臨床試料における ZNF143 の生物学的マーカーとしての研究はなされていない。今回申請者らは、肺腺癌手術症例における ZNF143 発現と臨床病理学的特徴および予後との関連について検討した。</p>				
<p>対象は肺腺癌で手術を受けた患者 183 例である。ZNF143 に特徴的な 2 カ所のアミノ酸配列から作成した合成ペプチドにより、New Zealand white rabbits を免疫して得られた特異的抗 ZNF143 ポリクローナル抗体を用い、免疫組織化学染色を行った。腫瘍内 ZNF143 陽性エリアの割合によって、30%をカットオフ値とし強発現と弱発現に分けた。MIB-1 index は 10%をカットオフ値として高発現と低発現に分けた。免疫組織化学的発現と臨床病理学的因子間の関連性は χ^2 二乗検定で計算した。免疫組織化学的発現と疾患特異的生存率について、Kaplan-Meier 法で生存曲線を描いて log-rank test で比較し、Cox 比例ハザードモデルで単変量および多変量解析により検討した。</p>				
<p>ZNF143 は核内にもみ発現しており、131 例(71.6%)で弱く、52 例(28.4%)で強く発現していた。ZNF143 強発現は中・低分化、高浸潤性サブタイプ、MIB-1 index 高値と有意に相関していた(P = 0.001)。また ZNF143 単独では Kaplan-Meier 分析で疾患特異的術後生存期間は弱発現(72.2 ヶ月)と比べて強発現(58.7 ヶ月)で有意(P = 0.029)に短かった。MIB-1 も核内にもみ発現しており、MIB-1 index は高分化、前・低浸潤性サブタイプにおいては低く、反対に、特に腫瘍巢の辺縁部において、中・低分化、高浸潤性サブタイプにおいては高かった。また、MIB-1 単独では、高いもの(61.9 ヶ月)は、低いもの(71.6 ヶ月)と比べて術後生存期間が有意に短かった (P = 0.001)。ZNF143/MIB-1 の発現パターンを強弱/高低で 4 群に分類して、各群の術後生存期間を Kaplan-Meier 法で比較すると、弱/低と強/低、弱/低と弱/高、弱/高と強/低の間には有意差はなかった。一方、強/高とその他を比較すると、前者は 48.4 ヶ月、後者は 72.1 ヶ月と顕著な有意差がみられた(P < 0.0001)。さらに Cox 比例ハザードモデルで検討すると、ZNF143/MIB-1 が強/高の組み合わせは単変量解析(P < 0.001)および多変量解析(P = 0.050)で独立した予後規定因子であった。</p>				
<p>以上より、肺腺癌における ZNF143 強発現は、病理組織学的に低分化かつ高い浸潤能を示す腫瘍増殖マーカーであり、術後生存期間を予測する因子であることが示され、ZNF143 に関する <i>in vitro</i> の先行研究の知見を、初めて臨床試料(<i>in vivo</i>)で裏づける結果となった。申請者らの研究をもとに今後、ZNF143 を分子標的とする肺腺癌治療の開発が大いに期待される。本研究は、肺癌の予後予測因子を、新規転写因子に関わる分子レベルの先行知見と結び付けて解明したものであり、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>				
平成 27 年 3 月 16 日				