

氏名

木村 朋子

論文題目

The combination of strong immunohistochemical mtTFA expression and a high survivin index predicts a shorter disease-specific survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. (mtTFA と survivin の免疫組織学的高発現を組み合わせることによって、膵管状腺癌における疾患特異的生存率不良を予測し得る)

論文要旨

<背景> 膵癌は日本で最も致死性の高い悪性腫瘍の一つで、中でも膵管状腺癌(PAC)が最も頻繁に見られる。PACは早期発見が困難で手術不能例が多く、たとえ手術で完全切除し得たとしても術後再発率が高いため、予後を推測し得る生物学的マーカーを同定することは、術後補助療法や再発・転移時の治療を鑑みるに非常に有用である。ミトコンドリア DNA の維持と遺伝子発現において中心的な役割を演じるタンパクとして知られる mtTFA (mitochondrial transcription factor A)は、癌の増殖にとって重要である、アポトーシス回避にも密接に関与しているとされる。実際、いくつかの固形腫瘍では、mtTFA の発現増加が腫瘍の進展やアポトーシス抵抗性・予後不良との相関において重要な臨床的意義を持っていることが報告されているものの、PAC の臨床試料での発現解析は非常に少ない。我々のグループは近年、mtTFA がミトコンドリア内のみならず核内にも存在し、アポトーシス抑制タンパクファミリーの一員で核内に存在する survivin の遺伝子発現と密接に関連することを明らかにしている。そこで本研究では、PAC における mtTFA と survivin の発現の組み合わせが、様々な臨床病理学的特徴のみならず疾患特異的生存率 (Disease specific survival : DSS) ともどのように相関するのかを調査した。

<方法> 1) 抗体の作成: mtTFA に対する合成ペプチドによりウサギポリクローナル抗体を作成し、western blot とペプチド競合法により抗体の特異性を確認した。Survivin 抗体は市販の抗体 (Santa Cruz Biotechnology 製、ウサギポリクローナル抗体)を用いた。

2) 症例検討: 産業医科大学病院において 1994 年から 2010 年までに、PAC のために膵頭十二指腸切除または膵尾部切除を施行され、予後追跡が可能な患者 70 例について臨床情報をカルテから収集した。

3) 免疫組織化学染色と評価方法: 特異的抗 mtTFA および抗 survivin 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、腫瘍内における染色陽性細胞の割合により mtTFA (細胞質に発現)では 30%をカットオフ値として強発現と弱発現に分けた。Survivin (核に発現)でも同様に、核の染色割合を確認し、10%をカットオフ値として高発現と低発現に分けた。






4) 統計学的検討: χ^2 検定を行い mtTFA および survivin の発現と臨床病理学的因子との関連を検討した。Kaplan-Meier 法で生存曲線を描き、log-rank 検定を施行した。さらに Cox 比例ハザードモデルによる単変量、多変量解析を行い、mtTFA と survivin 発現の組み合わせが PAC の予後規定因子になり得るかを検定した。

<結果> 免疫組織化学染色では、mtTFA は細胞質内のみ、survivin は核内のみ発現していた。70 例中、mtTFA 強発現は 27 例 (38.6%)、survivin 高発現も 27 例 (38.6%)であった。mtTFA、survivin 高発現症例は各々の低発現症例に比べて、有意に進行期癌が多く、低分化傾向であった。一方、組織学的な外科的断端陽性や、LI (リンパ管侵襲)(+)、V (血管侵襲)(+)、Ne (神経浸潤)(+)とは、それぞれ有意な相関はなかった。Kaplan-Meier 生存曲線では、術後 2 年間に於いて mtTFA 強発現症例では、弱発現症例に比べ DSS の有意な短縮が認められた。Survivin 高発現症例では、低発現症例に比べ DSS が短縮する傾向が認められたものの有意差はなかった。さらに、mtTFA と survivin が共に高発現している症例では、有意にリンパ節転移が多く、低分化傾向、かつ進行期癌であった。mtTFA/survivin 発現を弱/低 35 例(50.0%);強/低 8 例(11.4%);弱/高 8 例(11.4%);強/高 19 例(27.2%)に分類して検討したところ、強/高の症例はその他の症例に比べ、有意に顕著な DSS の短縮が認められた。次に弱/低症例と強/低症例、弱/低症例と弱/高症例、および弱/高症例と強/低症例についてそれぞれ検討したところ、DSS に有意差はなかった。Cox 比例ハザードモデルによる単変量、多変量解析の結果、mtTFA と survivin の高発現(強/高症例)は、腫瘍サイズ (>2cm)、進化した pT (病理学的 T 分類)、進行期癌と共に PAC の独立した予後規定因子であることが示された。

<考察> PAC において mtTFA と survivin が高発現している症例ではその他の症例に比べ、有意にリンパ節転移、低分化、進行期癌の傾向を認め、術後の DSS も有意に短縮していた。さらに病理組織学的に、mtTFA と survivin の発現は共に浸潤先端部に高度に見られ、増殖能、浸潤能の亢進との相関が示唆される所見と考えられた。*In vitro* の先行研究によると、mtTFA が過剰発現した細胞では、対照群に比べより高い増殖能を示し、mtTFA を knockdown した細胞では増殖が抑制されていたと報告されている。また、シスプラチン抵抗性についての研究では、シスプラチン治療により mtTFA の発現レベルが上昇しアポトーシス回避につながっていたことが報告されており、mtTFA が癌の増殖に強く関与していることが示唆されている。*In vivo* では、最近になり他のグループより、PAC の術後患者において、mtTFA が癌細胞の抗アポトーシス効果を通じて臨床予後を悪化させる点で重要な役割を果していることが報告されており、我々の結果を支持している。本研究では、PAC の術後患者において初めて、mtTFA と survivin の高発現の組み合わせが、DSS を予測する独立した一因子であるということが示された。さらに、特に術後最初の 2 年間に於ける DSS の新しい予後マーカーであるということも同時に示された。また、mtTFA に survivin 発現を組み合わせることによって、mtTFA 単独より強力に DSS を予測し得ることも判明した。我々のグループは以前に、survivin のプロモーター領域に 2 つの mtTFA 結合部位があることを報告しており、mtTFA が survivin の遺伝子発現と強く関連していることを明らかにしているが、今回の研究では、mtTFA と survivin の 2 つのタンパクの関係が相補的でも競合的でもなかったことから、この 2 つの細胞増殖マーカーは同時に発現しつつも別々に機能しているという、興味深い可能性を指摘するに至った。今後、術後早期に、腫瘍切片の mtTFA および survivin の発現を評価することにより、PAC の臨床病理学的悪性度や予後不良を予測し、術後補助療法を行う患者をより適切に、より早期に選択し得るということを鑑みるに、疾患管理においても、これらのマーカーは非常に役立つ可能性がある。

<結論> PAC において mtTFA と survivin の高発現を組み合わせることは DSS 不良を予測する。術後早期において mtTFA・survivin 両者の発現を評価することは、PAC の治療方針決定や疾患管理において有用な指標となる可能性があるといえよう。

学位論文審査結果要旨

氏 名	木村 朋子							
論文審査委員	主査	所属	障害機構	系	病態機構	部門	久岡 正典	
	副査	所属	環境・産業生態	系	保健・疫学	部門	松田 晋哉	
			障害機構	系	災害医学	部門	原田 大	
				系		部門		
				系		部門		

論文題目

The combination of strong immunohistochemical mtTFA expression and a high survivin index predicts a shorter disease-specific survival in pancreatic ductal adenocarcinoma
 (mtTFA と survivin の免疫組織化学的高発現を組み合わせることによって、膵管状腺癌における疾患特異的生存率不良を予測し得る)

学位論文審査結果要旨

膵癌は日本において最も致死率の高い予後不良な悪性腫瘍の一つであり、その制圧は今日の大きな課題の一つとなっている。特に、効果的な治療法の開発に加え、早期発見や膵癌患者の予後予測に結びつく因子やマーカーを見出すことは重要である。ミトコンドリア DNA の維持や修復などに中心的な役割を演じている mitochondrial transcription factor A (mtTFA) は、腫瘍細胞の増殖やアポトーシスの回避にとっても重要な上、その発現が大腸癌等のいくつかの癌で予後と関係していることも近年報告されている。さらに、mtTFA がアポトーシス抑制蛋白の一つである survivin の発現にも関与していることが見出されているが、膵癌における mtTFA や survivin の意義についての検討は乏しい。したがって申請者らは、膵癌（管状腺癌）におけるこれらの蛋白の発現が、腫瘍の臨床病理学的特徴や患者予後と関係があるか否かを検討した。

産業医科大学病院で切除された膵管状腺癌 70 例を対象として、そのホルマリン固定パラフィン包埋組織において抗 mtTFA 抗体と抗 survivin 抗体を用いて免疫染色を行い、mtTFA については癌細胞の 30%、survivin については 10% の陽性率をカットオフ値として高発現群と低発現群とに分け、それぞれの発現の程度と臨床病期や腫瘍径、脈管侵襲の有無、腫瘍細胞の異型度などの種々臨床病理学的因子との相関性の有無を χ^2 法により検討すると共に、Kaplan-Meier 法を用いて疾患特異的生存率を算出し、Cox ハザード比例モデルを用いた単・多変量解析によってそれらの高発現が膵癌の予後因子となり得るか否かを検討した。その結果、検索した 70 例において mtTFA および survivin が高発現していた例は共に 27 例(38.6%)であり、それらの群はいずれもそれぞれの低発現群と比較して有意に臨床病期が進行しており、より低分化な組織像を示す傾向が見られた。また、術後 2 年間に於いて、mtTFA 高発現群は有意に疾患特異的生存率が低下していた。さらに、両者が共に高発現している群では有意にリンパ節転移が多く、より低分化で高進行期度であり、術後の生存期間も有意に短縮していた。単・多変量解析では両者共に高発現であることが腫瘍径 (>径 2cm) や病期(pT3/4)と共に独立した膵癌の予後因子であることが示された。

以上の結果から、膵癌では mtTFA の発現が腫瘍細胞の増殖に関わると共に、survivin の発現を介してアポトーシスを回避することによってさらに腫瘍進展を促していることが示唆される。これらの点は、最近腫瘍がシスプラチン投与後に mtTFA の発現レベルを上昇させて、抗アポトーシス効果によりシスプラチン抵抗性を獲得する現象が見出されている事や、survivin の遺伝子のプロモーター領域に 2 つの mtTFA 結合部位が存在することが報告されている事からも支持されうると考えられる。本研究では比較的多くの膵癌症例を対象として、これまで検討に乏しい mtTFA と survivin の免疫染色を中心に緻密な臨床病理学的解析を行うことにより、同癌における予後予測因子として両蛋白の組み合わせを新たに見出した点で意義深く、今後の膵癌患者の取扱いや治療方針の決定などにおいて本研究結果が応用されることが期待されることから、本学の学位論文として適格であると判定した。

平成 27 年 4 月 27 日

氏 名

竹田 透

論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)

The combination of a nuclear HMGB1-positive and HMGB2-negative expression is potentially associated with a shortened survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. (膵管状腺癌におけるHMGB1陽性およびHMGB2陰性の核内発現の組合せは、患者予後の短縮と相関している可能性がある)

論文要旨

【目的】膵癌は致死性の高い悪性疾患であり、最も一般的な病理組織型である膵管状腺癌 (PDAC)では世界中で毎年227,000名が死亡している。PDACの5年生存率は4%未満であり、術後80%以上の症例で2年以内に再発や転移が起こるが、術後予後を予測する有効なバイオマーカーは未だ見つかっていない。

High-mobility group box B(HMGB)タンパク質は、核に遍在し、DNAと結合して転写・複製・組み換えを制御する。このタンパクファミリーの主要メンバーであるHMGB1と2は、肝癌、皮膚扁平上皮癌を含む複数のヒト固形腫瘍で高発現し、これらの発現が予後の悪さと有意に相関していると報告されている。しかし、PDACを対象としたこれらの発現と臨床病理学的特徴との関係については未だ報告されていない。本研究では、HMGB1および2発現レベルと予後との相関を明らかにすること、PDAC患者におけるバイオマーカーとしての可能性を見出すことを目的とした。

【方法】1994年から2010年に産業医科大学病院で、PDACのために膵十二指腸切除または膵尾部切除術を受けた患者の病理組織診断を再評価し、フォローアップデータが利用可能な62名を対象とした。3名の病理学者各々が独立してすべての標本を再検討している。ステージ分類にはUICCのTNM分類第7版を、悪性度のgradingにはWHO膵癌分類の組織学的悪性度分類システムを用いた。HMGB1と2の特異的合成ペプチドを用いてそれぞれのポリクローナル抗体を作成し、Western blot法・免疫沈降法を用いて抗体特異性を確認した。この特異的抗体によるPDAC組織標本の免疫組織化学染色を施行し、核のHMGBs発現が腫瘍内の10%以上あるものを陽性とした。統計分析については、免疫組織化学的発現レベルと臨床病理学的変数との相関は χ^2 乗検定・フィッシャーの正確確立検定、生存曲線はKaplan-Meier法を用いlog-rank検定を行った。ハザード比と95%信頼区間は、単変量・多変量Cox比例ハザードモデルを使って検定した。

【結果】免疫組織化学染色では、HMGB1はPDACの核に強く細胞質に弱い発現を呈し、HMGB2は核と細胞質に同程度の発現を認めた。HMGB1は8例(12.9%)で陰性、54例(71.9%)で陽性であり、HMGB2は31例(50.0%)で陰性、31例(50.0%)で陽性であった。HMGB1/2発現各々の陰性・陽性間における臨床病理学的特性(Grade、Stage、血清CA19-9、血管侵襲(VI)、神経周囲侵襲(PNI)の存在等)には、有意な差は認められなかった。Kaplan-Meier分析では予測に反し、HMGB2陰性発現(中央値12.6月)は、HMGB2陽性発現(21.3月)と比べ有意に術後疾患特異的生存率(DSS)中央値が短かった。さらに、HMGB1陽性と2陰性発現の組み合わせは、他の症例(中央値21.3月)に比べ、著明に短い術後DSS中央値(9.8月)を示した。単変量、多変量解析ともに、HMGB1陽性と2陰性発現の組合せのみがDSSに対して有意差を認めていた。

【考察および結論】HMGB1は、癌の増殖と浸潤転移の広がりにも寄与する、中心的な転写因子を調節することが分かっており、上皮間葉移行 (epithelial-to-mesenchymal transition; EMT) においても重要な役割を演じ、転移を促進する可能性がある。一方、HMGB2はHMGB1と高い相同性があるにもかかわらず、癌におけるその役割についてあまり知られていない。既存の上皮癌の研究によると、HMGB1と2の過剰発現は、病理組織学的に低分化の傾向があり、高浸潤度や転移性病変を有する等の、高悪性度と密接に関係していると報告されている。今回の研究では驚くべきことに、PDACにおけるHMGB1陽性発現と、逆に、HMGB2陰性発現の組み合わせが、予後に有意に関連することが示された。HMGB2は、ヨーロッパの家族性膵癌患者において潜在的癌抑制遺伝子であると報告されており、p53等と同様に、細胞周期の停止あるいはアポトーシスを含め、悪性化を防ぐ鍵となる機能を有している可能性があるようだ。また、最近の*in vitro*研究では、HMGB2のノックダウンが肺腺癌細胞系において化学療法感受性を有意に低下させたという結果も示されている。小集団における一施設の評価である我々の研究には限界があるものの、HMGB1/2間にはcrosstalkを思わせるような補完的な役割の存在する可能性が考えられる。また今回の研究では、既に報告されているHMGB1と同様に、2もPDAC細胞内の核と細胞質に発現が認められ、核・細胞質間のHMGBs発現の移行が腫瘍の悪性化と関わっているかもしれないが、これらに関しては今後の検討が待たれるところである。

今回、PDACの術後患者においてHMGB1陽性と2陰性発現の組み合わせが、DSSを著明に短くする独立した因子であることが初めて示され、特に術後2年以内のPDACに対する新たな予後マーカーである可能性が判明した。術後再発とその後の死亡の約80%が2年以内に起こるにもかかわらず、現状ではPDACの進行の可能性を予測する信頼できる指標が存在しない。今後、外科切除標本と術前生検サンプルにおける、HMGB1/2の発現パターンを検索することで、術後の臨床経過を予測するとともに、術前・術後補助療法の候補者となる患者選択をより適切に行うことができると期待するところである。

学位論文審査結果要旨

氏 名	竹 田 透						
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	生体機構 部門	中山 敏幸			(印)
	副査 所属	生体適応 系	生体構造 部門	佐藤 寛晃			(印)
		生体情報 系	生殖生理情報 部門	蜂須賀 徹			(印)
		系					(印)
		系					(印)

論 文 題 目

The combination of a nuclear HMGB1-positive and HMGB2-negative expression is potentially associated with a shortened survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma.
 (膵管状腺癌における HMGB1 陽性および HMGB2 陰性の核内発現の組合せは、患者予後の短縮と相関している可能性がある)

学位論文審査結果要旨

膵癌の術後5年生存率は4%未満であり、予後の悪い悪性疾患である。膵管状腺癌 (PDAC) においては世界中で毎年227,000人が死亡しているが、術後予後についての有用な生物学的指標は未だ不明である。High-mobility group box B(HMGB)タンパクは、核に遍在し、DNAと結合して転写・複製・組み換えを制御する。HMGB1と2は、肝癌、皮膚扁平上皮癌を含む多くのヒト固形腫瘍で高発現し、これらの発現が予後の悪さと有意に相関している。しかしPDACを対象としたHMGB1, 2発現と臨床病理学的因子との関係は不明である。HMGB1, 2の発現と予後との関連を明らかにし、PDAC患者における生物学的予後指標としての可能性を検討することを目的とした。

産業医科大学病院において1994年から2010年にPDAC治療のため膵十二指腸切除または膵尾部切除術を受けた患者のうち、術後追跡データが利用可能な62名について病理組織標本を再評価し、研究対象とした。HMGB1, 2の特異的合成ペプチドを用いてポリクローナル抗体を作成し、Western blot法、免疫沈降法を用いて抗体特異性を確認した。この特異的抗体によるPDAC組織標本の免疫組織化学染色を施行し、HMGB1, 2の発現と臨床病理学的因子との関連について、統計学的解析を行った。

PDAC組織標本の免疫組織化学染色において、HMGB1はPDACの核に強く細胞質に弱い発現を示し、HMGB2は核と細胞質に同程度の発現を認めた。HMGB1は陰性8例(12.9%)、陽性54例(71.9%)であり、HMGB2は陰性31例(50.0%)、陽性31例(50.0%)であった。HMGB1/2発現各々の陰性・陽性間における臨床病理学的因子(Grade、Stage、血清CA19-9、血管侵襲(VI)、神経周囲侵襲(PNI)等)には、有意な差は認められなかった。Kaplan-Meier解析では、HMGB2陰性発現はHMGB2陽性発現と比べ有意に術後疾患特異的生存率(DSS)が低かった。さらに、HMGB1陽性とHMGB2陰性発現の組み合わせは、他の症例に比べ、著明に短い術後DSSを示した。単変量、多変量解析ともに、HMGB1陽性とHMGB2陰性発現の組合せのみがDSSに対して有意差を認めた。

今回の研究では、PDACにおけるHMGB1陽性発現とHMGB2陰性発現の組み合わせが、膵管状腺癌の患者予後に有意に相関することが初めて示された。特に術後2年以内のPDACに対する新たな予後マーカーである可能性が明らかとなった。今後、外科切除標本と術前生検サンプルにおいて、HMGB1, 2の発現様式を検討することにより術後の臨床経過の予測に有用と期待される。

得られた結果は、膵癌におけるHMGB1, 2の生物学的重要性を新たに示したものであり、新しい膵癌の予後指標として有用と考えられた。今後の膵癌患者の治療方針の選択等に有益な成果をもたらす可能性が高いと考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成27年4月23日






氏 名	日浦 政明
論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)	
Alleviation mechanisms against hepatocyte oxidative stress in patients with chronic hepatic disorders (慢性肝疾患患者の肝細胞における酸化ストレス回避機構)	
論文要旨	
<p>【目的】ウイルス性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患やアルコール性肝疾患など、様々な肝疾患で小胞体ストレスや酸化ストレスが病態に関与する。細胞は常に正しい立体構造をとらない蛋白(unfolded protein)を産生しており、ウイルス感染や酸化ストレスによりこれらの産生が過剰になると小胞体ストレスと称される状態となる。それに対して細胞はunfolded protein responseという方法で対処する。これは、小胞体のセンサーによりその状態を感知し、蛋白の翻訳を抑制し、シャペロン蛋白の産生を亢進させ、プロテアソームでの蛋白分解を亢進させる反応であるが、これらで対処出来ない場合は自らをアポトーシスへと導く。これ以外にも細胞は、異常蛋白の蓄積に対して、封入体を形成して異常蛋白を隔離したり、オートファジーによって異常蛋白を分解する。Mallory-Denk body(MDB)は肝細胞におけるユビキチンやケラチン8/18(K8/18)を含む封入体である。本研究では、培養細胞に対するストレス負荷とB型慢性肝炎(CHB)、C型慢性肝炎(CHC)ならびに非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)における肝細胞に対する酸化ストレスとそれに対する反応を検討した。</p> <p>【方法】培養肝細胞にプロテアソーム阻害剤と脂肪酸を負荷し、小胞体ストレス、酸化ストレス、異常蛋白の蓄積をWestern blottingで検討した。CHB、CHC、NAFLDの肝生検組織を用いて、小胞体ストレス(CHOP)、酸化ストレス(HNE-J-2, hexanoyl-lysine)、MDB形成、オートファジー(LC3)、アポトーシス(cleaved caspase-3)の状態を免疫組織学的に検討した。</p> <p>【結果】培養細胞ではプロテアソーム阻害剤や飽和脂肪酸負荷により小胞体ストレスと酸化ストレスが惹起され、異常蛋白の蓄積が起こった。ヒト肝生検組織での検討では、CHCとNAFLDでは、CHBに比し肝細胞の脂肪化が有意に強かったが、他の因子に関しては疾患群で明らかな差を認めなかった。小葉内での酸化ストレスの状態は均一ではなく、酸化ストレスの強い領域と弱い領域が存在し、すべての疾患においてp62の発現は酸化ストレスの強い領域で亢進していた。MDBはHE染色では、典型的な大きなものは認識可能であるが、小さなものや大きな脂肪滴を有する細胞では検出が困難であった。MDBの構成成分(ユビキチン、K8、K18、p62)に対する免疫染色を行い、MDBの検出感度を比較するとK8とp62で有意に検出感度が高かった。p62染色で判断するとCHCの36%で、NAFLDの50%でMDBを認めた。CHBでは酸化ストレスに応じたK8の発現は弱く、p62が強発現した細胞でもMDBを形成しなかった。CHCとNAFLDでは、酸化ストレスの強い領域にMDBが存在し、MDBを含む肝細胞では酸化ストレスが回避されていた。また、MDBを含む細胞ではK8/K18の発現比が亢進していた。オートファジーに関しては、CHBにおいては酸化ストレスとLC-3の発現に関連を認めなかったが、CHCとNAFLDでは酸化ストレスの強い領域にオートファジーが亢進している症例とそうでない症例が存在し、前者ではALTが有意に低かった。</p> <p>【考察】酸化ストレスは多くの疾患の進展に関与しており、それに細胞は様々な方法で対処している。MDBは肝細胞にみられる封入体で、その構成成分はユビキチン、K8、18やp62である。CHCとNAFLDにおいて酸化ストレスの強い領域にMDBが観察された。細胞レベルで観察すると、酸化ストレスの強い領域でもMDBを形成した細胞では酸化ストレスが軽減されていた。そのためMDBの形成は異常な細胞障害性蛋白を隔離する細胞の防御反応であると考えられた。またMDBの形成には、その構成成分の中でもK8の発現亢進が重要と考えられた。オートファジーは細胞内の蛋白を含む細胞質、小器官や脂肪滴などを分解する機構である。CHCとNAFLDにおいては酸化ストレスとオートファジーの亢進が一致した症例で肝機能が良い傾向にあり、オートファジーがこれらの病態の保護に働いている可能性が示唆された。</p> <p>【結論】CHCおよびNAFLDとCHBではストレスに対する肝細胞の反応が異なった。CHCとNAFLDにおいて、MDB形成は酸化ストレスに対して肝細胞を保護し、オートファジーは酸化ストレスに反応して亢進すると肝障害を軽減した。この機構の調節は、これらの肝疾患の補助的治療になり得ると考えられた。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	日 浦 政 明					
論文審査委員	主査 所属	生体適応 系	生体構造 部門	佐藤 寛晃		印
	副査 所属	生体適応 系	生体機構 部門	中山 敏幸		印
		障害機構 系	災害外科 部門	田中 文啓		印
		系	部門			印
		系	部門			印
論 文 題 目						
<p>Alleviation mechanisms against hepatocyte oxidative stress in patients with chronic hepatic disorders. (慢性肝疾患患者の肝細胞における酸化ストレス回避機構)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>【背景】肝細胞は物質代謝などによって発生する酸化ストレスにさらされることが多い。細胞が酸化ストレスにさらされると小胞体から正常な立体構造をとらない異常蛋白 (unfolded protein) が過剰に産生され、これを小胞体ストレスという。正常な肝細胞は、小胞体ストレスに対して、封入体 (Mallory-Denk-body (MDB)) 形成による異常蛋白の隔離、オートファジーなどによる異常蛋白の分解亢進、ユビキチン・プロテアソーム系、シャペロンによる修復などによって異常蛋白を減少させるように反応するが、これらで対処できず異常蛋白が蓄積する場合には自らをアポトーシスへと導く。本研究は慢性肝疾患患者の肝細胞において、酸化ストレスに対してどのような反応が生じるのかについて明らかにすることを目的としたものである。</p> <p>【方法と結果】B 型慢性肝炎 (CHB)、C 型慢性肝炎 (CHC)、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) を対象とし、肝生検組織を用いて酸化ストレスと、MDB 形成、オートファジー、アポトーシスとの関連について免疫組織学的に検討を行った。</p> <p>いずれの疾患においても酸化ストレスの強い領域において MDB 前駆蛋白 (p62) の発現を認めた。MDB は p62 のほかに Keratin8 (K8)、Keratin18 (K18)、ユビキチンなどの蛋白から形成されるが、CHB ではこれら蛋白の産生が少なく MDB 形成を認めなかった。一方、CHC と NAFLD では、特に K8 が多く産生されて、肝細胞の細胞質に MDB が形成され、MDB が形成された肝細胞では酸化ストレスは減少していた。オートファジーに関して検討したところ、CHB では酸化ストレスとの関連は認められなかった。一方、CHC と NAFLD ではオートファジーと酸化ストレスの強さとの関連がある群と関連がない群とが存在し、関連がある群では肝傷害が軽減していた。アポトーシスに関しては、いずれの疾患においても、酸化ストレスが強くオートファジーが弱い領域において強く認められた。</p> <p>【結論と考察】CHB の肝細胞においては、酸化ストレスに対して MDB 形成やオートファジーなどの反応はほとんど確認できず、酸化ストレスによってアポトーシスが誘導された。一方、CHC と NAFLD の肝細胞では K8 をはじめとする蛋白産生による MDB 形成によって酸化ストレスを軽減し、オートファジーが酸化ストレスによる肝傷害やアポトーシスを回避していることが明らかとなった。本結果より、CHC や NAFLD などの慢性肝疾患において、MDB 形成やオートファジー機能を調節することにより、酸化ストレス傷害から肝細胞を保護することができる可能性があると考えられた。</p> <p>【審査結果】本研究は、慢性肝疾患の肝細胞における酸化ストレスに対する反応を明らかにしたものであり、CHC と NAFLD では、MDB 形成とオートファジーが酸化ストレス傷害から肝細胞を保護し、これらを調節することは CHC と NAFLD などの慢性肝疾患患者の補助的治療に有用である可能性が示された。以上の重要な所見よ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 4 月 13 日						

氏 名	岡 壮一
論文題目(欧文の場合,和訳を付すこと)	
Epidermal growth factor receptor-GEP100-Arf6 axis affects the prognosis of lung adenocarcinoma	
(EGFR-GEP100-Arf6 経路活性は肺腺癌の予後に影響する)	
論文要旨	
<p>【目的】 固形癌（特に乳癌）において浸潤形質獲得のためには、GEP100 と Arf6 の過剰発現、EGFR のシグナル経路活性が重要であるといわれている。p-EGFR・GEP100・Arf6 経路活性と肺癌の予後との関連については明らかではない。我々は、肺腺癌で p-EGFR・GEP100・Arf6 経路活性発現と臨床病理学的因子および予後との関係を検討した。</p> <p>【方法】 2003～2007 年までに当科で施行した肺腺癌完全切除症例のうち、解析可能であった 182 例を対象とした。p-EGFR・GEP100・Arf6 発現の有無は免疫組織化学染色法を用いて評価し、臨床背景として性別・年齢・喫煙歴・組織型・病理病期を因子とし、その関連を解析した。</p> <p>【結果】 p-EGFR・GEP100・Arf6 の陽性発現は、それぞれ 65 (35.7%)・95 (52.2%)・20 (11.0%) 人の患者で観察された。p-EGFR・GEP100 の発現と病理組織学的血管浸潤の程度は関連が認められ、p-EGFR と GEP100 の間にも関連がみとめられた。</p> <p>生存分析では、各因子の発現の有無で有意差は認められなかったが、5 年生存率で、p-EGFR・GEP100・Arf6 の 3 つの因子がすべて陽性の群は、明らかに予後不良であった ($p=0.011$)。また多変量解析においても、p-EGFR・GEP100・Arf6 の 3 つの因子がすべて陽性の群は、予後と関連していた ($p=0.021$)。</p> <p>【考察】 この研究で、大きく 3 つの発見があった。1 つ目は、肺腺癌において、p-EGFR と GEP100 の発現は比較的頻度が高いこと。2 つ目は、p-EGFR・GEP100 の発現と病理組織学的血管浸潤の程度は関連が認められること。3 つ目は、p-EGFR・GEP100・Arf6 それぞれ独立した因子と予後について関連は認められなかったが、p-EGFR・GEP100・Arf6 の 3 つの因子がすべて陽性の群は、予後と関連していた ($p=0.021$) ことであり、それぞれの因子の相互作用によって、予後規定因子になる可能性があるという事である。従って、肺腺癌において、p-EGFR・GEP100・Arf6 経路活性は術後予後予測因子の 1 つとなりえる可能性がある。</p> <p>【結論】 p-EGFR・GEP100・Arf6 それぞれにおける、個別の因子と予後の関連は認められなかったが、3 つの因子すべてが陽性の群と予後は関連が認められた。p-EGFR・GEP100・Arf6 のそれぞれの因子の相互作用が、肺腺癌においても浸潤・転移と関連し予後に影響を及ぼす可能性がある。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	岡 壮一							
論文審査委員	主査	所属	障害機構	系	病態機構	部門	久岡 正典	
	副査	所属	環境・産業生態	系	保健・疫学	部門	堀江 正知	
			生体情報	系	生殖生理情報	部門	蜂須賀 徹	
				系		部門		
				系		部門		
論文題目								
Epidermal growth factor receptor-GEP100-Arf6 axis affects the prognosis of lung adenocarcinoma (EGFR-GEP100-Arf6 経路活性は肺腺癌の予後に影響する)								
学位論文審査結果要旨								
<p>肺癌は男性で最も死亡数の多い癌として知られており、中でも腺癌はその組織型として最も発生頻度が高く、今日でも患者数は増加していることから、その予後の予測と患者の適切な取扱いは特に重要であると言える。肺腺癌において上皮成長因子受容体(EGFR)の発現とその活性化は、その下流にあるいくつかの細胞内シグナル伝達経路を活性化することで癌細胞の増殖や進展などに関与していることが知られており、EGFRは癌治療の分子標的としても臨床的に応用されている。申請者らは近年乳癌などの固形癌において特に転移・浸潤能獲得の指標の一つとして示唆されているEGFR-GEP100-Arf6経路に注目し、この経路の活性化と肺腺癌の臨床病理学的因子および予後との関係の有無について検討した。</p> <p>産業医科大学病院で切除された 182 例の肺腺癌のホルマリン固定パラフィン包埋組織を用い、それらの連続薄切片を作成後に、p-EGFR、GEP100、Arf6 の免疫染色を行い、それらの発現の有無と、性別や年齢、喫煙歴、病期、癌の分化度、血中の CEA 値、脈管侵襲の有無との関係について、χ^2法または Fisher の正確確率検定を用いて統計学的に解析した。さらに、患者予後との関係の有無を Kaplan-Meier 法にて検討すると共に、Cox 比例ハザードモデルを用いた単・多変量解析も行った。</p> <p>その結果、p-EGFR、GEP100、Arf6 の発現は、それぞれ 65 例(35.7%)、95 例(52.2%)、20 例(11.0%)に認められ、特に p-EGFR と GEP100 の発現の有無は脈管浸潤の有無と関連していた(p-EGFR: p=0.037、GEP100: p=0.034)。生存分析では各蛋白の個別の発現状況と患者予後との間に有意な関係は見出せなかったが、それら全ての蛋白が発現している例の群では 5 年生存率において有意に予後が不良であった(p=0.011)。また、多変量解析ではそれら全ての蛋白が陽性であることが、患者が男性であることや進行した T 病期(1b 期以上)、リンパ節転移の存在と共に独立した予後不良因子であることが示された。</p> <p>以上の結果から、肺腺癌では EGFR-GEP100-Arf6 経路の活性化は癌の浸潤傾向を表す性質の中でも特に脈管浸潤に関与することで予後に影響していることが示唆される。p-EGFR、GEP100、Arf6 の発現状況を検索する事により肺腺癌患者の予後を予測できることを見出し、この経路を標的とした治療を今後開発する上で有用な情報を提供した本研究は、本学の学位論文として適格であると判定した。</p>								
平成 27 年 4 月 27 日								