

平成24年2月

松澤和彦 学位論文審査要旨

主 査 谷 口 晋 一
副主査 山 本 一 博
同 清 水 英 治

主論文

甲状腺腫瘍組織における転写抑制因子PLZFの発現パターンについての検討

(著者：松澤和彦)

平成24年 米子医学雑誌 63巻 15頁～21頁

学 位 論 文 要 旨

甲状腺腫瘍組織における転写抑制因子PLZFの発現パターンについての検討

甲状腺癌は内分泌癌の中で最も多い癌であり、急速に患者数が増えている癌の一つである。高分化癌とされる乳頭癌や濾胞癌では患者の大多数は良好な経過をたどる。しかし、一部の癌では、甲状腺特異的機能の脱分化をきたし再発、死亡に至る。そのため、甲状腺の癌化についての詳細な病態解明と予後不良症例に対する治療の改善が求められている。

甲状腺癌の新たな治療として活性型ビタミンA (ATRA) が候補として考えられている。しかし、ATRAに反応の得られない症例も数多く存在している。ATRAは前骨髄性白血病 (APL) で90%以上の寛解が得られる治療として確立しているがAPLでもATRA治療抵抗性の症例がみられる。それらの症例ではAPLで多くみられるPML-RAR(retinoic acid receptor)融合遺伝子ではなく、PLZF-RAR融合遺伝子が確認されている。甲状腺癌でもATRA療法への反応性の違いが認められることから、本研究では腫瘍を含むさまざまな甲状腺組織におけるPLZFの発現、局在の違いを調べた。

方 法

患者検体

すべての患者組織はヘルシンキ宣言を遵守した鳥取大学医学部倫理審査委員会に則り得たものである。甲状腺組織は外科治療を受けた患者検体を用いている。対象患者は正常甲状腺6例、腺腫様甲状腺腫4例、濾胞腺腫3例、濾胞癌1例、乳頭癌18例、未分化癌3例を用いた。これら症例のうち、正常甲状腺2症例、腺腫様甲状腺腫3例、乳頭癌6例でウエスタンブロットを行い、正常甲状腺4症例、腺腫様甲状腺腫1症例、濾胞腺腫3症例、濾胞癌1症例、乳頭癌12症例、未分化癌3症例で免疫染色を行った。

ウエスタンブロット

各甲状腺組織の細胞抽出液10 μ gを使い、200倍希釈の抗PLZF抗体(rabbit)を用いた。HRP標識抗ウサギ抗体を2次抗体として使用した。2次抗体反応後、蛋白の検出を行った。発現強度を比較するために症例1を基準としPLZF/ β -actin比をデンストメーターを用いて数値化した。

免疫染色

パラフィン包埋組織を4 μm に切断し、脱パラフィン、脱水化後、電磁波により抗原賦活化し、内因性ペルオキシダーゼ活性を過酸化水素でブロックした。抗PLZF抗体、続いてペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体を用いて反応を行い各標本を発色反応させた。各標本は100倍率の光学顕微鏡で観察し、すべての標本に対して2名の共同研究者により核、細胞質それぞれの染色強度を評価した。

結果

PLZFの発現

正常甲状腺と比較して乳頭癌は全例でPLZFの強い発現がみられた。腺腫様甲状腺腫でもPLZFの発現を認めたが正常甲状腺と比較して同程度の発現量であり、乳頭癌と比較して発現は弱かった。デンスitomーターでの数値は正常甲状腺 0.850 ± 0.247 、腺腫様甲状腺腫 0.830 ± 0.157 、乳頭癌 1.816 ± 0.197 であり、乳頭癌では正常甲状腺、腺腫様甲状腺腫と比較して有意にPLZF発現量が増強していた。

PLZFの局在

正常甲状腺ではPLZF発現は核で強く認められた。腺腫様甲状腺腫、濾胞腺腫、濾胞癌では、正常甲状腺と比較して全体的に染色強度は強く、細胞質での発現も強かったが、核に有意に強く発現する染色パターンは正常甲状腺と同様であった。乳頭癌、未分化癌では大部分の細胞で核の染色は確認されず、細胞質で強い発現を示した。

考察

甲状腺組織におけるPLZFの発現は今まで報告されていない。PLZFは転写抑制因子として知られており、当初正常甲状腺、良性腫瘍でより発現が強いものと予想していたが、結果は予想に反し乳頭癌で発現の増強がみられた。

PLZFは細胞内局在の変化が多数報告された転写因子であり、各組織においてPLZFの細胞内局在が変化している可能性があると考え、PLZFの細胞内発現の違いについて検討した。免疫染色の結果より乳頭癌・未分化癌と他の組織間でPLZFの局在に違いがあることが明らかになった。

本研究によりPLZFが良性組織において核に、濾胞癌を除く悪性組織においては細胞質に局在することが明らかとなった。これは核から細胞質への局在変化がPLZFの転写抑制因子としての機能を喪失し、癌化の進展に関与している可能性を示唆する。しかし、濾胞癌におけるPLZF発現パターンは良性組織と類似しており、PLZFの核での発現が濾胞構造の保持

という機能的な側面にも関与している可能性が考えられた。

結 論

PLZFの発現をウエスタンブロットで確認し、さらに免疫染色で正常甲状腺、腺腫様甲状腺腫、濾胞腺腫、濾胞癌など濾胞構造を保持した組織では核に発現していること、対照的に乳頭癌・未分化癌でPLZFは細胞質で強発現していることが明らかとなった。この研究は各種甲状腺組織におけるPLZF発現ならびに細胞内局在の相違についての初めての報告である。