

平成22年2月

田村隆行 学位論文審査要旨

主 査 池 口 正 英
副主査 井 藤 久 雄
同 領 家 和 男

主論文

Minichromosome maintenance-7 and geminin are reliable prognostic markers in patients with oral squamous cell carcinoma: Immunohistochemical study

(ミニクロモソームメンテナンス7とジェミニンは口腔扁平上皮癌患者の信頼できる予後マーカーである：免疫組織学的研究)

(著者：田村隆行、庄盛浩平、春木朋広、野坂加苗、濱本佑樹、塩見達志、領家和男、井藤久雄)

平成22年 Journal of Oral Pathology and Medicine 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Minichromosome maintenance-7 and geminin are reliable prognostic markers in patients with oral squamous cell carcinoma: Immunohistochemical study

(ミニクロモソームメンテナンス7とジェミニンは口腔扁平上皮癌患者の信頼できる予後マーカーである：免疫組織学的研究)

1回の細胞周期に染色体複製を1回に限定するしくみを複製のライセンス化制御という。この機構はMinichromosome maintenance (MCM) がクロマチンに結合することで調節されている。MCM複合体のクロマチン結合はOrigin recognition complex (ORC)、Cdc6、Cdt1という3種の因子の介在により遂行される。またMCM複合体は、MCM2-7からなる6量体で、DNAヘリカーゼ活性を持つとされる。

一方Gemininは、内在性のDNA複製阻害タンパク質であり、Cdt1に強固に結合しその機能を抑止することによりライセンス化反応を負に制御する。近年MCM複合体の一つであるMCM7とGemininの発現について、肺癌や大腸癌を含む様々な悪性腫瘍においてその発現亢進が報告され、悪性度や予後などとの関連が報告されている。

本研究では、ヒト口腔扁平上皮癌におけるMCM7、Geminin発現、およびこれらの予後予測因子としての有用性を検討した。

方 法

口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-3、HSC-4、SCCKN) を培養し、ウエスタンブロット法でMCM7、Geminin蛋白の発現を検討した。免疫組織化学は、ヒト口腔正常上皮10例、異形成50例、扁平上皮癌生検症例113例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから連続切片を作製し、MCM7、GemininおよびKi67に対する抗体を用いた。標本の高頻度に発現している部位で平均1000個の細胞を計測し、陽性細胞標識率 (Labeling index:LI) を算出した。算出したLIを用いて、MCM7、Geminin発現と臨床病理学的因子や予後との関連について統計学的に検討を行った。統計解析は $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

口腔扁平上皮癌細胞株3株いずれも、ウエスタンブロット法にてMCM7およびGemininでシングルバンドを検出した。

免疫組織化学ではMCM7、GemininおよびKi67は細胞の核に陽性であった。正常上皮および上皮異形成では基底層から傍基底層にかけて陽性細胞がみられた。一方扁平上皮癌の高分化型ではMCM7およびGemininは腫瘍胞巣辺縁の基底細胞のほとんどが陽性で、中心部の角化部周囲は陰性であった。低分化型では腫瘍胞巣全域に高頻度に陽性細胞が観察された。

口腔扁平上皮癌におけるMCM7、Geminin、Ki67標識率の平均値は、それぞれ51.1%、21.3%、34.0%であったが、陽性細胞標識率はそれぞれ相互に正の相関を示した。またMCM7、Geminin、Ki67ともに悪性化したがつて、正常上皮<上皮異形成<扁平上皮癌で陽性細胞標識率は高値を示した。

MCM7標識率は組織学的分化度において、低分化であるほど有意に高値を示した。一方でGemininおよびKi67標識率は臨床病理学的因子との関連は認められなかった。

中央値を閾値として高値群と低値群に分類し、カプランマイヤー法を用いて生存解析を行った。MCM7高値群は腫瘍の臨床病期であるⅢ、Ⅳ期症例で有意に予後不良を示した。Geminin高値群はⅣ期症例において逆に有意に予後良好であった。一方で、Ki67は予後と有意な関連は認められなかった。

考 察

MCM複合体は全ての細胞周期に発現し、Ki67はG1後期以外の細胞周期に発現し、GemininはS、G2、M期に発現すると考えられている。陽性細胞標識率はGeminin<Ki67<MCM7で高値であり、これらは細胞周期を反映したものと考えられた。

MCM7、Geminin、Ki67は正常上皮および上皮異形成において細胞増殖帯である傍基底層に発現しており、MCM7、GemininはKi67と有意な正の相関を示すことから、増殖マーカーとして有用と考えられ、過去の報告とも一致した。

ヒト口腔扁平上皮癌においてMCM7とGemininは正の相関があるにも関わらず、MCM7とGemininの高発現では全く異なる予後であった。過去の多くの報告ではGeminin高発現は不良な予後を示しているが、本研究では逆の結果となった。GemininはS、G2、M期に発現しておりGeminin陽性細胞は放射線化学療法に対する感受性が高いことが予想される。本研究においてもⅣ期症例で約9割の症例で放射線化学療法が行われており、Geminin高値群では、悪性度は高いものの放射線療法が奏効し、逆に予後良好であったということが推察された。

結 論

MCM7、Gemininの発現は、口腔扁平上皮癌の予後予測に寄与する可能性が示唆された。