

平成21年2月

西原圭祐 学位論文審査要旨

主 査 林 一 彦
副主査 井 藤 久 雄
同 小 川 敏 英

主論文

Minichromosome maintenance protein 7 in colorectal cancer: Implication of prognostic significance

(大腸癌におけるミニクロモソームメンテナンス7発現：予後予測の有用性)

(著者：西原圭祐、庄盛浩平、藤岡真治、徳安成郎、稲葉愛子、尾崎充彦、小川敏英、井藤久雄)

平成20年 International Journal of Oncology 33巻 245頁～251頁

学 位 論 文 要 旨

Minichromosome maintenance protein 7 in colorectal cancer: Implication of prognostic significance

(大腸癌におけるミニクロモソームメンテナンス7発現：予後予測の有用性)

背 景

Minichromosome maintenance (MCM) はDNA複製において重要なタンパク質である。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。MCMタンパクは非小細胞性肺癌、乳癌、前立腺癌などで予後予測因子として報告されている。なかでもMCM7はマウスの実験において、発現亢進が腫瘍形成に寄与すると報告されている。

Ki67は細胞増殖マーカーとして汎用されている。また、MCM陽性Ki67陰性細胞は潜在的増殖能をもつ非増殖性細胞を意味し、卵母細胞や初潮前の乳腺細胞がこの表現型を示す。この細胞群は腎細胞癌の悪性度や予後不良と関連することが報告されている。

本研究では、ヒト大腸癌におけるMCM7、MCM2、Ki67の発現、及び予後予測因子としての有用性を検討した。

対 象 と 方 法

大腸癌細胞株Colo201、Colo320、DLD-1、LoVo、WiDrの5株におけるMCMタンパクの発現をウエスタンブロット法にて検討した。Dukes' B およびC 大腸癌切除症例202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成し、MCM7、MCM2、Ki67に対する抗体を用い、免疫組織化学を行った。標本の高頻度に発現している部位で平均730細胞を計測し、陽性標識率(LI)を算出した。算出したLIを用いて、臨床病理学的因子や予後と統計学的に比較、検討した。二重蛍光抗体法を用い、MCMタンパクとKi67の発現を検討した。統計解析は $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

大腸癌細胞株5株いずれも、ウエスタンブロット法にて、MCM7は88 kDaに、MCM2は130 kDaにシングルバンドを検出した。

免疫組織化学では、MCM7、MCM2およびKi67は細胞の核に陽性であった。MCM7陽性細胞とMCM2陽性細胞はほぼ同じ細胞に発現していた。腫瘍中心部よりも辺縁部に高頻度に発現していた。非腫瘍部粘膜では腺管の下3分の1に陽性細胞が観察された。二重蛍光抗体法では、Ki67陽性細胞はすべてMCM7陽性であった。Ki67が単独陽性となる細胞は、MCMタンパクが

染色体から離れる分裂期細胞のみであった。

LIの平均はMCM2、MCM7、Ki67はそれぞれ、57.1、58.1、40.6%であった。MCM7陽性Ki67陰性細胞のLIは17.6%であった。MCM7 LIとMCM2 LIはKi67 LIよりも有意に高値を示した。MCM7 LIとMCM2 LIは有意な正の相関を示した($r=0.58$)。

MCM7 LIと臨床病理学的因子との関連はなかった。MCM2 LIは局在、Dukes分類、分化度と有意な関連があった。Ki67 LIは分化度、T因子、リンパ節転移、遠隔転移と有意な関連があった。MCM7陽性Ki67陰性腫瘍細胞のLIはリンパ節転移、遠隔転移、病期と有意な関連があった。

平均LI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高値群は有意に予後不良であった。MCM2やKi67は予後と有意な関連はなかった。病期を揃えた検討でも、有意差はないが、MCM7 LI高値群は予後不良な傾向を示した。Coxハザード解析法の単変量解析では、MCM7高値群は有意に予後不良であった(相対危険度2.11)。多変量解析では、臨床病期、分化度、MCM7 LI高値(相対危険度2.12)、局在が独立予後因子であった。

考 察

MCM7 LIは臨床病理学的因子との関連がないにもかかわらず、有意な独立予後因子であった。前立腺癌や肺癌では臨床病理学的因子との関連が報告されているが、この差異は組織の違いによるものと考えられた。

MCM7 LIは独立予後因子となったが、MCM2は予後との関連がなかった。In vitroの研究で、MCM4、6、7からなる3量体がDNAヘリカーゼ活性を示し、MCM2、3、5はその調節因子であると報告されており、MCM機能の違いによる影響が考えられた。MCM7はMCMファミリーのうち唯一、MYC転写因子群の標的であることも考慮される。大腸癌においてMCM7はMCM2よりも優れた予後予測因子と考えられた。

MCM7陽性Ki67陰性腫瘍細胞の増加は転移と関連があった。この表現型は、近年注目されているがん幹細胞の特徴のひとつと類似している。すなわち増殖能力を持つが、細胞周期の進行が非常に遅いという性質である。トランスジェニックマウスの実験で、正常幹細胞がMCM陽性であったと報告されている。このMCM7陽性Ki67陰性腫瘍細胞群にがん幹細胞が含まれているという仮説が導かれた。今後の検討が必要であると考えられた。

結 論

MCM7は有意な独立予後因子であった。潜在的増殖能をもつ非増殖性細胞を示すMCM7陽性Ki67陰性腫瘍細胞のLIは転移と有意な関連を示した。