

徳安成郎 学位論文審査要旨

主 査	林 一 彦
副主査	井 藤 久 雄
同	池 口 正 英

主論文

Minichromosome maintenance 2 (MCM2) immunoreactivity in stage III human gastric carcinoma: clinicopathological significance

(StageIII胃癌におけるMCM2の免疫組織化学的発現：臨床病理学的意義)

(著者：徳安成郎、庄盛浩平、西原圭祐、川口廣樹、藤岡真治、山家健作、池口正英、井藤久雄)

平成20年 Gastric Cancer 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Minichromosome maintenance 2 (MCM2) immunoreactivity in stage III human gastric carcinoma: clinicopathological significance

(Stage III 胃癌におけるMCM2の免疫組織化学的発現: 臨床病理学的意義)

染色体は、一度複製された領域は、M期が終了するまで二度と複製されないよう制御されている。こ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呼ぶ。細胞周期のG1期で複製開始起点に、Minichromosomal maintenance (MCM) 2~7のリング状の6量体からなるMCM複合体が結合して複製開始可能な状態になることをライセンス化されるという。ライセンス化されて初めて、S期でDNAが合成される。

MCMはリンパ濾胞や上皮の増殖活性の強い部分で発現しており、細胞増殖との関連性が示唆されている。また、非小細胞肺癌、乳癌などの腫瘍で発現が亢進しており、臨床病理学的因子、予後との関連性が報告されているが、胃癌との関連は検討されていない。

そこで本研究ではMCMの中で、MCM2に着目し、ステージIII胃癌との関連を検討した。

方 法

ヒト胃癌細胞8株におけるMCM2の発現をWestern blottingにて検討した。ステージIII胃癌103例の切除標本パラフィンブロックを用いて、MCM2、Ki-67そしてp53の特異抗体で免疫組織化学染色を実施した。MCM2、Ki-67およびp53陽性癌細胞のLabeling Index (LI;%) 標識率を求めた。また、両者の発現の相違を蛍光2重染色にて検討した。

MCM2とKi-67のLIを臨床病理学的所見と比較検討し、あわせて、胃癌の組織別に予後との比較を行った。なお、抗MCM2モノクローナル抗体は、鳥取大学医学部基盤病態医学講座で作製された。

結 果

ヒト胃癌細胞株8株を用いた検討では、Western blotting法で130 kDのシングルバンドがすべての細胞株で確認され、種々の発現レベルを示していた。

MCM2は非腫瘍性粘膜にも陽性細胞が分布しており、腺頸部の増殖帯に一致していた。

腸型胃癌60例、びまん型胃癌43例において、免疫組織化学に、MCM2と、既知の増殖マーカーであるKi-67の標識率を比較した。腸型胃癌の平均MCM2陽性率は $69.1 \pm 11.8\%$ 、Ki-67標識率は $48.2 \pm 14.5\%$ であった。びまん型胃癌ではMCM2標識率 $43.7 \pm 9.9\%$ 、Ki-67標識率は $24.9 \pm 11.0\%$ であった。前者では後者に比較してMCM2、Ki-67ともに陽性率が有意に高かった ($P < 0.01$)。

MCM2、Ki-67の2つのマーカーの標識率はピアソンの相関係数の検定でr値が0.72と強い相関を示していた。更にMCM2とKi-67との関連を検索する目的で、2重蛍光染色を施行した。MCM2はKi-67よりも多くの癌細胞で標識されていた。またMCM2陰性、Ki-67陽性細胞は核分

裂期の形態を示していた。

MCM2とKi-67の陽性率と臨床病理学的項目、p53の陽性率との関連について検討した。腸型胃癌とびまん型胃癌の何れにおいても、MCM2、Ki-67の陽性率と臨床病理学的所見、p53陽性率との間に有意な相関関係はなかった。

次にMCM2、Ki-67標識率と患者予後を比較した。MCM2、Ki-67の陽性率の中央値をcut off値とし、高標識群と低標識群でoverall survivalを比較検討した。その結果、腸型胃癌ではMCM2、Ki-67ともに、両群間では有意差はなかった。他方、びまん型胃癌では、MCM2高標識群では低標識群に比較して、予後が有意に不良であった ($P < 0.05$)。Ki-67標識率と予後との関連はなかった。

多変量解析では、MCM2標識率は独立した予後因子であることが示された。

考 察

MCMはライセンス化因子であるため、実際増殖している細胞だけでなく、潜在的な増殖能をもつ細胞にも発現があると考えられる。よって胃癌において、MCM2はKi-67よりも陽性率が高い。MCM2陰性、Ki-67陽性細胞は核分裂細胞に限られていた。これはMCMの生物学的作用と一致する所見である。

腸型胃癌とびまん型胃癌の各種増殖活性マーカー標識率を比較すると、本研究と同様に前者において高いことが示されている。但し、apoptotic indexも高いため、腸型胃癌は増殖活性が高いが、cell lossの比率が高い癌腫と特徴づけられる。

患者予後との比較をすると、Ki-67標識率では有意差がなかったにもかかわらず、MCM2ではびまん型胃癌において有意差があった。症例数を増やして、さらに検討を加える必要がある。

結 論

MCM2がステージⅢのびまん型胃癌において、有用な予後因子であることが示された。