

氏名	ひらまつとしき 平松俊紀
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第542号
学位授与年月日	平成18年 3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Expression of RUNX3 protein in human esophageal mucosa and squamous cell carcinoma (ヒト食道粘膜ならびに扁平上皮癌における RUNX3 蛋白の発現)
学位論文審査委員	(主査) 林 一彦 (副査) 池口正英 井藤久雄

学位論文の内容の要旨

ヒト食道癌は、外科的切除後の三年生存率が9~39%と予後が不良であることが知られている。食道癌における予後を左右する因子として、本研究では癌抑制遺伝子である runt-related transcriptional factor 3 (RUNX3)に注目した。RUNXファミリーは造血幹細胞の分化や急性骨髄性白血病の発生、骨芽細胞の機能と骨・軟骨形成機序や胃上皮細胞の増殖抑制・分化および胃癌の発生に関与していると考えられている。これまでに胃癌・膵癌・胆道癌・肺癌・大腸癌など多くの癌において RUNX3 発現の低下が報告されている。本研究では、食道粘膜ならびに食道扁平上皮癌における RUNX3 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討し、併せて RUNX3 蛋白の発現と食道扁平上皮癌症例の臨床病理学的因子との相関を明らかにすることを目的とした。

方法

食道扁平上皮癌細胞株(TE-1,8,12)より蛋白質および RNA を抽出した。抗体は当教室で作成した抗 RUNX3 抗体(AS251)を用いた。食道癌細胞株ならびに外科手術にて採取された食道癌組織3例から得られた蛋白質を用い、ウエスタンブロット法にて RUNX3 蛋白の発現を確認した。また、食道癌細胞株から得られた RNA より RTPCR 法を行い、RUNX3mRNA の亜型である RUNX3/P46、P44、P27 の発現を検索した。鳥取大学附属病院において切除された144症例の食道癌組織をホルマリン固定・パラフィン包埋し、3 μ mの厚さに薄切して免疫組織化学的検討に用いた。腫瘍細胞における RUNX3 蛋白陽性細胞率が5%未満の症例を低発現、5%以上の症例を高発現と分類し、 χ 二乗検定により統計学的解析を行った。食道癌術後の予後は、stage II-IVでかつ3年間の予後追跡し得た66症例についてのみ Kaplan-Meier法を用いて検討した。0.05未満を有意と判定した。

結 果

ウェスタンブロット法で RUNX3 蛋白の検索を行い、食道扁平上皮癌細胞株ならびに食道の粘膜および扁平上皮癌組織のいずれからも、45kDa,30kDa 付近にそれぞれ陽性バンドが確認された。3 株の食道癌細胞株を用いた RTPCR より、いずれの細胞株も RUNX3/P44 と P27 の mRNA が発現していたので、ウェスタンブロット法にて検出された 2 本のバンドは RUNX3/P44 および P27 であることが示唆された。

免疫組織化学法により RUNX3 蛋白陽性細胞は、食道粘膜では重層扁平上皮の中層から表層にかけて発現し、その細胞内局在は主として細胞質であった。食道扁平上皮癌では角化胞巣周囲にある癌細胞の細胞質に発現していた。食道扁平上皮癌 144 症例のうち、RUNX3 蛋白高発現例は、高分化型では 19 症例中 17 症例(89.5%)、中分化型では 56 症例中 36 症例(64.3%)、低分化型では 69 症例中 16 症例(23.2%)であった。扁平上皮癌の分化度と RUNX3 蛋白の発現の間には χ^2 検定により有意な相関性が認められた($p < 0.01$)。

食道癌手術後の 66 症例(RUNX3 高発現 37 症例、低発現 29 症例)について 3 年間の予後追跡調査の結果、RUNX3 低発現群が高発現群より有意に予後が不良であった($P=0.0003$)。

考 察

食道癌細胞株ならびに食道扁平上皮癌組織において発現している RUNX3 蛋白は RUNX3/P27 ならびに P44 の 2 つの亜型であると考えられた。RUNX3 蛋白は正常食道粘膜においては傍基底細胞層から表層の細胞質に主に発現し、増殖能の高い基底細胞層では発現しないことから、細胞分化ならびに増殖の制御に関与することが示唆された。胃粘膜でも同様に、腺管の増殖帯で発現せず、分化した腺上皮に発現することが知られている。RUNX3 蛋白は食道や胃の粘膜や癌細胞の細胞質に発現するが、他の研究で一過性に核内にも発現することが報告されている。これらより、RUNX3 蛋白は TGF-beta 等により刺激を受けると核内に移行して分化や増殖抑制等に働くと考えられている。また、RUNX3 蛋白発現は低分化型扁平上皮癌で有意に低発現であり、これらの RUNX3 蛋白低発現群の予後は高発現群予後に比べて有意に不良であることが示された、これらの結果も、RUNX3 発現が食道において腫瘍抑制効果を示すことを支持する所見と考えられる。また、RUNX3 蛋白の発現の有無が食道扁平上皮癌患者の予後因子となる可能性が示された。

結 論

食道粘膜上皮や癌細胞における RUNX3 蛋白発現は、これらの細胞の分化および増殖抑制に関与すると考えられた。RUNX3 蛋白が食道扁平上皮癌患者の予後予測因子となることが示唆された。

審査結果の要旨

食道癌は、予後が不良であるが、本研究では癌抑制遺伝子である RUNX3 に注目し、食道粘膜と食道扁平上皮癌と扁平上皮癌細胞株における RUNX3 の発現と臨床病理学的因子の関連を詳細に観察して、RUNX3 の食道癌の予後因子としての有用性を検討している。その結果、食道扁平上皮癌組織と扁平上皮癌細胞株において発現している RUNX3 蛋白は RUNX3/P27 ならびに P44 の 2 つの亜型であることを解明した。また、扁平上皮癌の分化度と RUNX3 蛋白の発現の間には χ^2 検定により有意な相関性が認められ、さらに、食道癌手術後の 66 症例(RUNX3 高発現 37 症例、低発現 29 症例)について 3 年間の予後追跡調査の結果、RUNX3 低発現群が高発現群より有意に(P=0.0003)予後が不良であることを示した。本論文の内容は、RUNX3 蛋白発現が食道扁平上皮癌の細胞の分化および増殖抑制に関与し、患者の予後因子となることが示唆したもので、明らかに病理学分野の学術水準を高めたものと認める。