

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
菅 敬 治	主 査 教 授 谷 川 允 彦 副 査 教 授 芝 山 雄 老 副 査 教 授 勝 健 一 副 査 教 授 森 浩 志 副 査 教 授 大 槻 勝 紀
主論文題名 Correlation between transcriptional expression of survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas (ヒト大腸癌におけるサバイビンアイソフォームの転写発現と臨床病理学的因子との相関性について)	
学位論文内容の要旨	
<p> ≪背景および研究目的≫ Survivin は癌-胎児性遺伝子の一種と考えられ、胎児期には存在するが正常細胞では低～無発現であり、癌化とともに高発現を認める特徴的な発現分布を示すアポトーシス抑制遺伝子である。Survivin は有糸分裂の開始時に紡錘体の微小管と結合するが、この反応は特異的で微小管の動態で調節される。因みに、survivin と微小管の結合を破壊すると、survivin の抗アポトーシス作用が失われ細胞死にかかわる caspase3、caspase7 活性が上昇するとされている。すなわち survivin が G2/M 期に高発現するとアポトーシスを抑制する。そのためアポトーシスチェック機能が作動せず、悪性転化した細胞を有糸分裂へと誤って進めてしまうことが判明している。これまでに survivin には二種類の splice variants (survivin-2B、survivin-ΔEx3) が同定されている。survivin-2B は潜在性 exon としての intron2B を含みアポトーシス誘導作用に、survivin-ΔEx3 は exon3 が欠除しアポトーシス抑制作用に働きかける傾向にあるとされるが上記のような詳細な機能解析には至っていない。本研究では、ヒト大腸癌における survivin と splice variants (survivin-2B、survivin-ΔEx3) の mRNA 発現量を測定し、survivin および splice variants と臨床病理学的因子との関連性を明らかにし分子生物学的診断における survivin および splice variants の役割を検討した。 </p> <p> ≪対象および方法≫ 当科で 1994 年から 1997 年にかけて施行した大腸癌手術症例から、採取可能であった 52 症例の正常組織部と腫瘍部を対象とした。凍結標本から total-RNA を抽出して survivin specific-primer を用いて cDNA を作製し、定量的 RT-PCR 法は Light Cycler (Roche Diagnostics) を用いておこなった。腫瘍部と正常組織部各々の survivin、survivin-2B、survivin-ΔEx3 の mRNA レベルを測定した。また、Glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6PDH) にて標準化し、その結果を用いて各々の発現レベルと臨床病理学的因子との関連性を検討した。 </p> <p> ≪結 果≫ 1. 対象としたヒト大腸癌で、腫瘍部では正常組織部に比べて survivin および splice variants の高発現を認めた。survivin、survivin-2B、survivin-ΔEx3 の定量的 RT-PCR 増幅値は、それぞれ </p>	

3554.1±3513.7、1233.4±1280.9、482.0±568.1を示し、特に survivin の mRNA 発現レベルは2種の splice variants より有意差をもって高値を示した。

2. 正常組織部での mRNA 発現レベルはそれぞれ 105.6±145.1、34.9±50.3、14.7±19.7 であり腫瘍部に比べ低値であった。

3. Survivin、survivin-2B、survivin-ΔEx3 を G6PDH で標準化をおこなった mRNA 発現レベルは、腫瘍部では正常組織部と比べて有意差をもって高値を示した。survivin、survivin-2B、survivin-ΔEx3 の mRNA 発現レベルと種々の臨床病理学的因子(性別、年齢、部位、大きさ、肉眼的分類、病理学的分類、脈管浸潤、リンパ節転移、壁深達度)との関連性を検討したが、有意な関連を示す因子は認められなかった。

4. 組織学的病期(Stage)別(I+II vs III+IV)に検討すると、survivin ならびに survivin-2B、survivin-ΔEx3 の mRNA の発現は、病期進行度による有意な変化は認めなかったが、survivin-2B/survivin の病期進行群 stage(III+IV)は有意な減少($p = 0.0057$)を認め、survivin-ΔEx3/survivin の病期進行群 stage(III+IV)では有意な上昇($p = 0.0410$)を認めた。

5. Kaplan-Meier 法による生存率解析をおこなうと、survivin-2B/survivin の関連性が認められ高値群(> 0.3)では予後良好であった。

《考察および結論》

本研究では、ヒト大腸癌における survivin および splice variants の定量的 mRNA 発現レベルを測定し、臨床病理学的因子をもとに発現状況を検討した。その結果、survivin および splice variants の腫瘍における発現レベルの検討では、正常組織より高発現であることを認めた。組織学的病期(Stage)別(I+II vs III+IV)の検討では、survivin および splice variants の発現レベルに相関性は認められなかった。しかし、survivin-2B/survivin (mRNA)は病期進行度に依存的に減少、対照的に survivin-ΔEx3/survivin (mRNA)は病期進行度に有意に上昇することが認められた。

Survivin および splice variants は胎児期におけるアポトーシスの調節だけではなく癌細胞における増悪決定因子である可能性があり、さらには survivin-2B/survivin (mRNA)は患者の予後予測因子として機能することが見出されたと結論した。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	菅 敬 治
論文審査担当者		主 査 教 授 谷 川 允 彦 副 査 教 授 芝 山 雄 老 副 査 教 授 勝 健 一 副 査 教 授 森 浩 志 副 査 教 授 大 槻 勝 紀	
主論文題名 Correlation between transcriptional expression of survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas (ヒト大腸癌におけるサバイビンアイソフォームの転写発現と臨床病理学的因子との相関性について)			
論文審査結果の要旨			
<p>近年のアポトーシスの研究の進歩に伴い、細胞の癌化にアポトーシスの異常が深く関与することが明らかとなった。申請者は、特にアポトーシス抑制遺伝子として同定された survivin および二種類の splice variants (survivin-2B、survivin-ΔEx3) に着目し、survivin および survivin-2B、survivin-ΔEx3 mRNA の発現関係を検討することによって大腸癌における survivin の役割を評価し、以下の結果および結論を得ている。</p> <p>大腸癌腫瘍部では、全例に survivin および splice variants が正常組織より高い発現を認めた。組織学的病期(Stage)別 (I+II vs III+IV) の検討では、G6PDH で標準化をおこなった survivin、survivin-2B、survivin-ΔEx3 のいずれの発現にも有意な差を認めなかったが、stage(III+IV)群で survivin-2B を survivin で除した発現率 (survivin-2B/survivin) の減少と、survivin-ΔEx3 を survivin で除した発現率 (survivin-ΔEx3/survivin) の上昇は有意な変化であった。また、Kaplan-Meier 法による生存率解析により survivin-2B/survivin の高値群 (> 0.3) が予後良好であることを認めた。</p> <p>Survivin ならびにその二種類の splice variants は胎児期におけるアポトーシスの調節だけではなく癌細胞における増悪決定因子である可能性があり、さらには survivin-2B/survivin(mRNA) は患者の予後予測因子として機能することが見出されたと論じている。</p> <p>本研究は、発癌過程における survivin の意義を示すものであり、また申請者によって得られたこれらの研究結果は今後の新しい癌治療法の確立ひいては癌患者の予後の向上に資するところ大なるものと考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) ONCOLOGY REPORTS 13: 891-897, 2005</p>			