

氏 名	穀 内 康 人
(ふりがな)	(こくない やすひと)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 25 年 7 月 10 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	Immunohistochemical analysis of O ⁶ -methylguanine-DNA methyltransferase in human melanoma in comparision with skin squamous cell carcinoma (ヒト悪性黒色腫、皮膚扁平上皮癌における O ⁶ -メ チルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ発現 の免疫組織学的検討)
論文審査委員	主査 教授 樋 口 和 秀 副査 教授 岡 田 仁 克 副査 教授 朝 日 通 雄

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目 的》

悪性黒色腫や脳腫瘍などに対する化学療法で用いられるダカルバジン(DTIC)や塩酸ニムスチン(ACNU)などのアルキル化剤は DNA の塩基中の様々な部位をアルキル化する作用を持つ。このようなアルキル化 DNA の中でも、グアニン(guanine, G) 残基内の 6 位の酸素のアルキル化、すなわち O⁶-メチルグアニン(O⁶-methylguanine, O⁶-MG) を形成することが抗がん剤としての主たる薬理作用であると考えられている。DNA 修復酵素の一つである O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ(O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, O⁶-MGMT) は、アルキル化剤によりメチル化された DNA 上の O⁶-MG

を正常なグアニンに修復する機能を持つ。したがって、O⁶-MGMT の発現が弱い腫瘍細胞ではアルキル化剤に対して感受性が高いが、一方、O⁶-MGMT が強く発現している場合、腫瘍細胞はアルキル化剤に対して耐性を示すと考えられる。しかし、これまで皮膚科領域の腫瘍に対して O⁶-MGMT 発現を解析した研究報告は極めて少ない。本研究の目的は、①悪性黒色腫、扁平上皮癌の日本人患者検体を用いて O⁶-MGMT の発現を免疫組織学的に評価すること、②悪性黒色腫においてアルキル化剤による治療効果、患者予後と腫瘍内 O⁶-MGMT 活性との関係性を検討することである。

《方 法》

(対象)

1999年1月～2011年7月の期間にアルキル化剤を用いた化学療法を施行した悪性黒色腫患者12人の病変より採取した病理組織標本14検体、同時期に当院を受診した皮膚扁平上皮癌患者11人の病変より採取した病理組織標本11検体を検討した。

(免疫組織化学染色、および O⁶-MGMT 活性の評価)

抗 O⁶-MGMT 抗体 (MT3.1) (Santa Cruz Biotechnology Inc. Santa Cruz, CA) を一次抗体として使用し、EnVision system (Dako, Japan, Tokyo) を用いて免疫組織学的に検討した。悪性黒色腫、扁平上皮癌いずれも腫瘍組織を顕微鏡下にて 500-1000 個の腫瘍細胞を観察し、O⁶-MGMT 発現細胞の割合を評価した。

《結 果》

免疫組織学的解析にて、扁平上皮癌 11 例中 9 例は 90%以上の腫瘍細胞が O⁶-MGMT 陽性であり、残り 2 例も 70%以上の腫瘍細胞が O⁶-MGMT 陽性であった。一方、悪性黒色腫では 12 検体中 4 検体で O⁶-MGMT の陽性率が 0～30%と低値であった。悪性黒色腫の原発巣から採取した標本は 7 検体であり、その内 3 検体では O⁶-MGMT 陽性率が低く (0～30%)、残りの 4 例は陽性率が 60%以上と高値であった。原発巣で O⁶-MGMT の発現が

高値であった4例のうち、3例は予後不良であった。また原発巣で O⁶-MGMT の発現が低値であった3例は予後良好であった。同一症例で異なる時期に採取した転移巣の O⁶-MGMT 発現は2例あり、1例ではアルキル化剤による化学療法前に採取したリンパ節転移巣が50%であったのに対して、化学療法後に出現した皮膚転移巣で90%と上昇していた。もう1例では、化学療法とは無関係に採取した2か所の皮膚転移巣の O⁶-MGMT 発現が90%、10%であった。

《考 察》

悪性黒色腫や神経膠腫などに対して抗がん作用を期待してアルキル化剤が用いられるが、その耐性化機構として O⁶-MGMT の関与が報告されている。

本研究の結果から、皮膚扁平上皮癌は O⁶-MGMT 発現の高い腫瘍であるのに対して悪性黒色腫は多様な O⁶-MGMT 発現を呈する腫瘍であることが判明した。また、悪性黒色腫の原発巣で O⁶-MGMT 発現が高値であった4症例では、1例を除いて予後不良であり、発現が低値であった3例は予後良好であったことから悪性黒色腫において O⁶-MGMT 発現が低い腫瘍はアルキル化剤に対して感受性が高いことが推測された。

化学療法前後で転移巣の O⁶-MGMT 発現が変化した症例があったが、このことはアルキル化剤を用いた化学療法により、アルキル化剤に対して耐性を持つ腫瘍細胞が選択的に残存していくことにより薬剤に耐性化した腫瘍が増殖した可能性を示唆する。

《結 論》

皮膚扁平上皮癌においては O⁶-MGMT 活性が高く、本腫瘍においてアルキル化剤が無効であることが示唆される。一方、悪性黒色腫において O⁶-MGMT の発現はアルキル化剤に対する感受性に関与する可能性が高く、悪性黒色腫において O⁶-MGMT の発現を事前に評価することはアルキル化剤を用いた化学療法の効果を推測することに役立つ。本研究の結果は、悪性黒色腫に対する選択的化学療法の可能性を示唆している。

論文審査結果の要旨

悪性黒色腫や神経膠腫などに対して抗がん作用を期待してアルキル化剤が用いられるが、その耐性化機構として O⁶-MGMT の関与が報告されている。本研究は①悪性黒色腫、扁平上皮癌の日本人患者組織検体を用いて O⁶-MGMT の発現を免疫組織化学的に評価すること、②悪性黒色腫においてアルキル化剤による治療効果、患者予後と腫瘍内 O⁶-MGMT 発現との関係性を検討することを目的として行ったものである。その結果、皮膚扁平上皮癌は O⁶-MGMT 発現の高い腫瘍であるのに対して悪性黒色腫は多様な O⁶-MGMT 発現を呈する腫瘍であることが判明した。また、悪性黒色腫の原発巣で O⁶-MGMT 発現が高値であった 4 症例では、1 例を除いて予後不良であり、発現が低値であった 3 例は予後良好であった。これらの結果より、皮膚扁平上皮癌においては O⁶-MGMT 活性が高く、本腫瘍においてアルキル化剤が無効であることが示唆される。一方、悪性黒色腫においては、O⁶-MGMT の発現が低下している症例に対してはアルキル化剤に対する感受性が高い可能性があり、O⁶-MGMT の発現を事前に評価することはアルキル化剤を用いた化学療法の効果を推測することに役立つと考えられる。つまり、本研究の結果は、悪性黒色腫に対する選択的化学療法の可能性を示唆するものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条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。

(主論文公表誌)

Medical Molecular Morphology
2013 in press

doi: 10.1007/s00795-013-0030-3