

氏 名 (本 籍) 福 岡 順 也 (奈良県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 2 3 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 9 月 8 日

学 位 論 文 題 目 Chromatin Remodeling Factors and BRM/BRG1 Expression as Prognostic Indicators in
Non-Small Cell Lung Cancer
(クロマチン修飾因子および BRM/BRG1 の発現と肺非小細胞癌の予後)

審 査 委 員 主 査 教 授 岡 部 英 俊
副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐
副 査 教 授 岡 田 裕 作

論文内容要旨

※整理番号	326	(ふりがな) 氏名	ふくおか じゅん や 福岡 順也
学位論文題目	Chromatin Remodeling Factors and BRM/BRG1 Expression as Prognostic Indicators in Non-small Cell Lung Cancer (クロマチン修飾因子および BRM/BRG1 の発現と肺非小細胞癌の予後)		
<p>目的： 肺癌は世界において癌死をきたす最大の原因であり、予後改善の最も望まれる疾患の一つである。現在肺癌は摘出にて根治可能なステージでも治療後の経過は良好とはいえない。肺癌の治療成績向上の為には予後因子の同定や癌の生物学的特徴の解明は非常に重要である。</p> <p>近年、高速大量スクリーニング (High Throughput screening) が分子科学の進歩に大きな役割を果たしているが、Tissue Microarray (TMA)もそのひとつで、多症例における蛋白、RNA もしくは DNA などの発現を均一条件下で一度に観察する事ができる。今回我々はクロマチン修飾因子に着目し、TMA を使用して肺非小細胞癌における同因子発現の特徴および予後との関連を検討した。クロマチン修飾は最近注目を集めつつある転写制御のシステムで、複合体を形成しながら DNA に結合し、ヒストンに巻きついた DNA を機能的にスライドさせる事で開放もしくは閉鎖し、転写を促進・抑制する。ATP 依存性のクロマチン修飾複合体は其中で最も良く研究されており、癌との関与が注目されている。BRM と BRG1 は ATPase を有するコア蛋白で、同一の一連蛋白と複合体を形成するが、複体内に共存する事は無い。今回我々は ATP 依存性クロマチン修飾因子およびそれらに密接に関与する 12 の蛋白につき検討を行った。</p> <p>方法： AFIP(軍病理学研究所)の症例ストックより、300 症例 (150 例の腺癌と同数の扁平上皮癌) の肺非小細胞癌症例を抽出し、100 個の非腫瘍部組織を同時に含む TMA を作成した。ATP 依存性クロマチン修飾因子およびその関連因子として、BRG1, BRM, BAF170, BAF155, HDAC1, HDAC2, RbAP48, RB, Ini-1, mSin3A, HAT1 および Tip60 を選択し、各々に対する抗体を用い、免疫組織化学を行った。予後の検討は Kaplan Meier 生存曲線と Log Rank 検定を用いて評価した。全て蛋白の発現データは階層型クラスタリングおよびカイ自乗検定にて互いの相関につき検討を行った</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

結果： Tip60 以外の 11 の蛋白質はその転写制御機能により期待されたごとく核に局在を示したが、うちいくつかの蛋白(BRG1, BRM, BAF155 および Ini-1)では核とともに細胞質および膜への局在を認めた。Tip60 の発現は細胞質のみに認められた。階層型クラスタリング解析では上述 11 の蛋白における核内発現が 2 つのグループに分別された。一つは BRM, Ini-1, RB, mSin3A, HDAC1 および HAT1 よりなり、他は BRG1, BAF155, BAF170, HDAC2 および RbAP48 よりなるグループであった。細胞質および膜にみられた発現はいずれにもクラスター形成を示さなかった。カイ自乗検定において上記クラスター形成を支持する個々蛋白間の相関が確認された。

300 症例の内、約三分の二の症例において臨床情報の追跡が可能であった。BRM の核内染色が扁平上皮癌と腺癌を合わせた全症例間で良好な予後との相関を示した。5 年生存率は核内 BRM 陽性群で 53.5%であったのに対し、陰性群では 32.3%であった。(p 値= 0.015) それに対し、膜に局在を示す BRM の発現は腺癌において不良な予後と相関を示した。5 年生存率は膜 BRM 陽性群で 16.7%であったが、陰性群では 38.1%であった。(p 値= 0.016) 他の蛋白の発現において、単独での予後との相関を認めなかった。BRM と BRG1 共発現症例では 5 年生存率 72%と、その他の 33.6%と比較し、良好な予後への相関を示した。(p 値= 0.013)

考察： BRM と BRG1 は同一複合体に共存はしないが、同じ結合蛋白と複合体を形成して機能する事が分かっている。しかし我々の結果は、肺非小細胞癌において BRM と BRG1 が違ったシリーズの蛋白と異なる複合体を形成する事を示唆している。また核における BRM と BRG1 の共発現症例が良好な予後との相関を示した事より、BRM と BRG1 が互いの機能の補足により腫瘍の増殖に対し抑制的に働く可能性がある事を示している。最近、BRG1 と BRM の共欠損が肺非小細胞癌にとって予後不良を示す因子であるとの報告があったが、我々の結果はそれにある程度合致するものと考えられる。更に BRM の核内発現が良好な予後との関連を示したのに対し、膜に発現の局在を示す腺癌では予後不良を示した事は細胞内での BRM 蛋白分解や輸送の異常が癌の悪性度を決定する生物学的性質を助長している事を示唆している。

結論： 12 の ATP 依存性クロマチン修飾因子およびその関連因子を免疫組織化学的に検討した。核発現蛋白は BRM と BRG1 を中心とする 2 つのグループに分別された。これは肺癌における真の生物学的相互作用を反映している可能性がある。BRM の核内発現や膜発現および BRG1 と BRM の核内共発現は予後との優位な相関を示した。これらは今後の肺非小細胞癌への新しい予後マーカーとしての有用性を示唆するものである。

整理番号	326	氏名	福岡 順也
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>本研究は300例の肺非小細胞癌症例を含むTissue Microarrayを使用してクロマチン修飾因子およびその関連因子発現の特徴を検索し、その内評価可能な検索結果が得られ臨床経過が追跡できた症例について予後との関連を検討したものである。12の蛋白質に対する抗体による免疫組織化学を行い、生存分析、クラスター分析、χ^2検定を行った。データはNCIの臨床統計学部門にて検討された。その結果、11の蛋白質における核内シグナルが2つのグループに大別され、コア蛋白であるBRM、BRG1は別のグループに含まれていた。BRMのみが単独での予後との相関性を有し、核BRM陽性例は陰性例に比して予後良好であった。さらに、一部の症例において癌細胞膜にBRMが発現を見いだすとともに、腺癌では膜BRM陽性例は膜陰性例に比して予後不良であることを明らかにした。以上の結果は、肺非小細胞癌ではBRMが発現する部位によって相反する予後因子になりうることを明らかにしたのみならず、BRMとBRG1が既知の複合体の枠組を越えて機能を発揮する可能性を示唆するものであった。本研究の成果は、今後の癌生物学の発展と予後因子解明に貢献するものであり、博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められた。</p>			
(平成16年9月1日)			