OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Clinical significance of CDC25A and CDC25B expression in squamous cell carcinomas of the oesophagus
Author(s)	西岡, 清訓
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43881
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏名	西岡清訓（にしおかきよのり）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第17200号
学位授与年月日	平成14年5月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Clinical significance of CDC25A and CDC25B expression in squamous cell carcinomas of the oesophagus （食道扁平上皮癌におけるチロシン脱リン酸化酵素CDC25A、CDC25B発現の臨床的意義）
論文審査委員	（主査） 教授 門田 守人 （副査） 教授 野島 博　教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

【目的】

細胞周期はcyclin-dependent kinase（CDK）の活性化、及び不活化によって制御されているが、CDKの活性化因子としてCDC25 familyが知られている。CDC25 familyにはCDC25A、B、Cの3種のサブタイプがあり、CDC25AはG1期に、CDC25BとCDC25CはG2/M期にCDKを脱リン酸化して活性化することにより、細胞周期進行を促進する。このうちCDC25AとCDC25Bは悪性リンパ腫、乳癌、非小細胞肺癌などの悪性腫瘍で過剰発現しており、新たな癌遺伝子としての働きが注目されている。食道扁平上皮癌においてはcyclin D1の遺伝子増幅、PCNAの過剰発現、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$の減弱等の細胞周期関連分子の異常がいわれているが、CDC25A、CDC25Bの発現に関する報告はない。今回この新しい細胞周期関連癌遺伝子CDC25A、CDC25Bの食道扁平上皮癌における発現を検討した。

【方法】

1)免疫染色

外科的根治切除を行った食道扁平上皮癌100症例の癌組織のホルマリン固定パラフィンブロックを用い、CDC25A、CDC25Bの免疫組織染色を行った。免疫組織染色はABC法で自動染色システムを使用し、一次抗体として抗ヒトCDC25Aポリクローナル抗体、抗ヒトCDC25Bモノクローナル抗体を用いた。

染色性の評価は、CDC25Aに関しては癌細胞の50%以上が陽性の症例を過剰発現群：(+)、50%未満の症例を発現減弱群：(−)、CDC25Bに関しては癌細胞の10%以上が陽性の症例を過剰発現群：(+)、10%未満の症例を発現減弱群：(−)とした。そしてCDC25A、CDC25Bの発現性と臨床病理学的諸因子との関連を比較した。また84症例においては他の細胞周期調節分子（cyclin D1、PCNA、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$）の免疫組織染色を合わせて行い、CDC25A、CDC25Bとの関連を検討した。

2)Western blot

新鮮手術標本の正常組織と癌組織より蛋白を抽出し、CDC25A、CDC25B抗体を用いてWestern blotを行った。また、CDC25Aについては組織蛋白を核、細胞質分画に分けて抽出し、同様にWestern blotを行った。

3)RT-PCR

新鮮手術標本の正常組織と癌組織より TRIZOL を用いて Total RNA を抽出し、CDC25A、CDC25B の RT-PCR を行った。それぞれを house keeping gene の PBGD 発現量で補正し半定量した。

【成績】

1)免疫染色

非癌部食道扁平上皮において、CDC25A は傍基底層の核に弱く、CDC25B は有棘層の細胞質に淡く発現された。癌細胞では CDC25A は細胞質及び核に CDC25B は細胞質に強く発現し、100 例中 46 症例（46%）が CDC25A(+)、48 症例（48%）が CDC25B(+)を示した。CDC25A と CDC25B の発現性に関連は認めなかった。

CDC25A(+)症例は腫瘍の進行した症例に多く、CDC25A の発現は腫瘍径（$p=0.0007$）、深達度、（$p=0.0141$）、リンパ節転移（$p=0.0034$）と有意な相関を示した。また、CDC25B(+)も同様に深達度（$p=0.0155$）、リンパ節転移（$p=0.0041$）と相関した。CDC25A、CDC25B と代表的な細胞周期調節分子（cyclin D1、PCNA、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$）の発現には関連は認められなかった。

予後因子としての意義を検討すると単変量解析では、CDC25A(+)（Risk Ratio＝3.022、$p=0.014$）リンパ節転移陽性（RR＝2.502、$p=0.0024$）、深達度 T3 以深（RR＝2.322、$p=0.0038$）、腫瘍径 50 mm 以上（RR＝2.752、$p=0.0327$）、$p27^{KIP}$(−)（RR＝2.017、$p=0.0153$）が有意な予後不良因子であった。CDC25B は有意な予後因子ではなかった。多変量解析では CDC25A(+)が、唯一の独立した予後規定因子であった（RR＝3.289、$p=0.0451$）。また、CDC25A は細胞質のみに発現されるものと核と細胞質の両方に発現される症例があるが両者の間に予後及び臨床病理因子の差は認められなかった。

2)Western blot

Western blot 法で確認した蛋白の発現量は、CDC25A、CDC25B ともに免疫染色の結果と一致した。また CDC25A 蛋白を核と細胞質の分画に分けた場合も同様に免疫染色の結果と一致した。

3)RT-PCR

RT-PCR 法で確認した m-RNA の発現量も CDC25A、CDC25B ともに免疫染色の結果と一致した。

【総括】

CDK 活性化脱リン酸化酵素 CDC25A、CDC25B は、食道扁平上皮癌で高頻度に過剰発現し、癌の進行度に相関することより癌遺伝子として働いていることが想定された。CDC25A、CDC25B の過剰発現はこれまで報告されている cyclin D1、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$ 等の他の細胞周期関連分子とは相関を認めず、これらとは異なるメカニズムで制御されていると考えられる。特に CDC25A は、リンパ節転移、深達度よりも有効な独立予後規定因子であり臨床的価値は高いと思われた。

論文審査の結果の要旨

細胞周期は cyclin-dependent kinase（CDK）の活性化、及び不活化によって制御されているが、CDK の活性化因子として CDC25 family が知られている。CDC25 family には CDC25A、B、C の 3 種のサブタイプがあり、CDC25A は G1 期に、CDC25B と CDC25C は G2/M 期に CDK を脱リン酸化して活性化することにより、細胞周期進行を促進する。このうち CDC25A と CDC25B は悪性リンパ腫、乳癌、非小細胞肺癌などの悪性腫瘍で過剰発現しており、新たな癌遺伝子としての働きが注目されている。食道扁平上皮癌においては cyclin D1 の遺伝子増幅、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$ の減弱等の細胞周期関連分子の異常がいわれているが、CDC25A、CDC25B の発現に関する報告はない。今回この新しい細胞周期制御遺伝子 CDC25A、CDC25B の食道扁平上皮癌における発現を検討した。

その結果、CDC25A、CDC25B は、食道扁平上皮癌で高頻度に過剰発現し、癌の進行度（リンパ節転移、深達度）に相関することが明らかになった。これらのことより、CDC25A、CDC25B は癌の progression factor として働いていることが想定された。また、CDC25A、CDC25B の過剰発現はこれまで報告されている cyclin D1、Rb、$p16^{INK4}$、$p27^{KIP}$ 等の他の細胞周期関連分子とは相関を認めず、これらとは異なるメカニズムで制御されていると考えられた。

特に CDC25A は、リンパ節転移、深達度をしのぐ独立予後規定因子であることが明らかとなり、臨床的価値は高いと思われた。

本研究で、新規細胞周期制御遺伝子 CDC25A、CDC25B の食道扁平上皮癌における progression factor としての可能性を示したこと、CDC25A の独立予後規定因子としての臨床的価値を示したことにより、学位に値すると考える。