



Title	NEW PROGNOSTIC INDICATOR FOR NON-SMALL-CELL LUNG CANCER, QUANTITATION OF THYMIDYLATE SYNTHASE BY REAL-TIME REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION
Author(s)	新谷, 康
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45340
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	新 谷 康
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 5 1 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	NEW PROGNOSTIC INDICATOR FOR NON-SMALL-CELL LUNG CANCER, QUANTITATION OF THYMIDYLATE SYNTHASE BY REAL-TIME REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (原発性非小細胞肺癌の thymidylate synthase mRNA 量と腫瘍悪性度について の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 川 瀬 一 郎 教 授 青 笹 克 之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

肺癌は増加傾向を示しており、予後改善につながる肺癌研究は社会的な急務である。従来、癌の悪性度は手術後の病理病期により予後が推測され、術後補助療法などの治療方針が決定されてきた。しかし、肺癌で同じ病期であるにもかかわらず予後に差があることがしばしば臨床の場で見受けられる。そこで近年、形態学的診断を補うために分子生物学予後因子を明らかにする研究が多くなされている。

癌悪性度の指標として、DNA 合成に不可欠な酵素である TS (Thymidylate Synthase) が注目され、その発現と予後に関する解析が消化器癌を中心に行われてきた。しかし、非小細胞肺癌における TS 発現と予後に関する報告はない。また、TS 遺伝子の非翻訳領域には 28 bp の 2 回 (2R) または 3 回 (3R) の繰り返し配列が存在し、その遺伝子多形により TS 蛋白の発現が異なり、大腸癌で TS 遺伝子型 3R/3R で 2R/2R・2R/3R に比して予後が悪いことが報告された。

本研究においては、非小細胞肺癌切除標本を用いて定量 PCR 法で TS mRNA 量を測定し、蛋白発現や TS 遺伝子多形と比較して、TS 遺伝子発現が肺癌患者の臨床上有用な予後因子に成り得るか否かを検討した。

〔方 法〕

対象は病理 (p-) stage I-II で補助療法を施行されていない非小細胞肺癌手術症例 70 例 (p-Stage I : 59 例、II : 11 例、腺癌 : 45 例、扁平上皮癌 : 25 例) とし、研究に関する承諾を得た上で、摘出組織から TS 発現を検討した。TS mRNA 量は、凍結腫瘍組織より RNA を抽出した後に real time RT-PCR 法で定量した。普遍的な外部標準として PCR 産物から合成した RNA を希釈して用いることで、TS mRNA のコピー数を算出し、さらに内部コントロールである GAPDH (glyceralde-hydro-3-Phosphate dehydrogenase) mRNA コピー数で補正し、結果は対数値で示した。免疫染色はパラフィン切片を用いて TS ポリクローナル抗体で行った。また、TS 遺伝子多形の検出はパラフィン切片から DNA を抽出し、PCR 法で行った。

〔成 績〕

腫瘍内 TS mRNA 量は 6.298-7.601 (mean $\pm$ SD : 6.96 $\pm$ 0.36) で、正常肺組織の TS mRNA 量 6.025-7.133 (6.64 $\pm$ 0.34) に比して有意に高値であった (Mann-Whitney U-test ; $p=0.002$)。また、腫瘍組織では p-T1 に比して p-T2 で高い傾向を示した ($p=0.069$) が、N 因子、組織型による差は認めなかった。免疫染色では 70 例中 39 例が陽性であり、陽性群では陰性群に比し有意に TS mRNA 量が高値であった。TS 遺伝子多形は 55 例で検出し、3R/3R : 36 例, 3R/2R : 14 例, 2R/2R : 5 例であった。3R/3R では 2R/2R・2R/3R に比して有意に免疫染色陽性が多く (χ^2 test ; $p=0.004$)、TS mRNA 量が高かった ($p=0.0019$)。

再発は 70 例中 13 例に認められ (平均観察期間 ; 33 ヶ月)、TS mRNA 平均値で 2 群に分けた場合に、TS 高発現群で低発現群に比して有意に無再発生存率が低かった (log-rank test ; $p=0.010$)。免疫染色の結果および遺伝子多形での群分けでは、無再発生存率に差は認めなかった (免疫染色 : $p=0.34$ 、TS 遺伝子多型 : $p=0.09$)。年齢 (65 歳未満 vs 以上)、性別 (男性 vs 女性)、p-T 因子 (pT2 vs pT1)、p-N 因子 (pN1 vs pN0)、組織型 (扁平上皮癌 vs 腺癌)、TS mRNA 量 (高発現 vs 低発現) を共変量とした場合、多変量解析で TS mRNA 量が無再発生存率に対する独立危険因子であった ($p=0.016$ 、危険率 : 5.382、95%CI : 1.374-21.078)。

〔総 括〕

- 1) 普遍的な外部標準として PCR 産物から合成した RNA を用いて、Stage I、II 非小細胞肺癌を対象に腫瘍内 TS mRNA の定量を行った。
- 2) 正常肺組織に比して腫瘍組織内で TS mRNA 量が有意に高かった。
- 3) TS 免疫染色陽性例では陰性群に比して、TS mRNA 量は有意に高く、TS 遺伝子型 3R/3R では 2R/2R・2R/3R に比して、有意に TS mRNA 量が高かった。
- 4) TS mRNA 高発現群では低発現群に比して、有意に無再発生存率が低く、多変量解析で独立した再発危険因子であり、TS mRNA 量は免疫染色および遺伝子多形に比べて予後の判定に有用であった。
- 5) 以上より、腫瘍内 TS mRNA 量は非小細胞肺癌症例の予後因子になり得ることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

Thymidylate synthase (TS) は DNA 合成に不可欠な酵素であり細胞増殖能と関連し、消化器癌を中心に予後因子としての役割が注目されている。新谷康君は、合成 RNA を普遍的な外部標準として定量 RT-PCR 法を導入し、非小細胞肺癌病理病期 I、II 期 (70 例) における腫瘍内 TS mRNA 量を定量し、TS 蛋白発現および 28 bp の繰り返し配列 (R) を示す TS 遺伝子多形と比較した。TS 免疫染色陽性例では陰性群に比して TS mRNA 量は有意に高く、TS 遺伝子型 3R/3R では 2R/2R・2R/3R に比して有意に TS mRNA 量が高かった。TS mRNA 量を平均値で 2 群に分け無再発生存率を比較すると、有意に TS 高発現群での再発率が高く、多変量解析 (性別、年齢、pT、pN、組織型、TS mRNA 量) では TS mRNA 量が再発率を規定する独立因子であった。また、TS 蛋白発現および TS 遺伝子多形による群分けでは無再発生存率に差を認めなかった。微量な検体から精密な定量が可能な TS mRNA 量が非小細胞肺癌の有用な予後因子であることを示した本研究は、学位に値するものと認める。