The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Expression of WT1 Protein and Correlation With Cellular Proliferation in Glial Tumors
Author(s)	羽柴, 哲夫
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47436
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

【90】

氏　　名	羽　柴　哲　夫（は　しば　てつ　お）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２０９８８　号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年３月 23 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	Expression of WT1 Protein and Correlation Wigh Cellular Proliferation in Glial Tumors （glioma 組織における WT1 蛋白の発現強度と増殖能との相関について）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　吉峰　俊樹 （副査） 教　授　門田　守人　　教　授　青笹　克之

論 文 内 容 の 要 旨

〔　目　　的　〕

WT1 遺伝子（*WT1*）は Zing finger 型の転写因子をコードする遺伝子であり、当初小児悪性腎腫瘍である Wilm's tumor の責任遺伝子として同定され、癌抑制遺伝子と認識されてきた。しかし、その遺伝子産物である WT1 蛋白は、血液系悪性腫瘍や種々の固形癌において過剰発現していることが明らかになり、癌遺伝子としての認識とともに、癌抗原として機能することが期待され、WT1 蛋白を標的とした癌ワクチン療法の臨床試験が進められつつある。代表的な原発性脳腫瘍である glioma においても、WT1 蛋白が過剰発現することが知られているが、増殖能との関係については詳しく検討した報告はない。筆者らは、種々の glioma における WT1 蛋白の発現強度と増殖能を免疫組織学的に検討し、その関係について考察すると共に、発現の組織学的局在について検討を加えた。

〔　方法ならびに成績　〕

glioma 73 例［astrocytic tumor 60 例（WHO grade 1：2 例、grade 2：15 例、grade 3：9 例、grade 4：34 例）、oligodendroglial tumor 8 例（WHO grade 2：7 例、WHO grade 3：1 例）、ependymal tumor 5 例（WHO grade 2：1 例、grade 3：4 例）］を対象とし、各病理組織を 6μm 厚のパラフィン包埋切片にて用意した。各症例につき、WT1 と Ki-67（MIB-1）の染色を免疫組織学的に行った。WT1 染色は、1 次抗体として抗 WT1 モノクローナル抗体（6F-H2）（DAKO, Carpinteria, CA, USA）を 50 倍希釈にて使用し、２次抗体以降を市販のマウスステインキット Histofine Simple Stain MAX-PO（MULTI）（Nichirei Bioscience, Tokyo, Japan）を用い、3,3'-diaminobenzidine（DAB）（Dojindo laboratories, Kumamoto, Japan）にて発色を行った。WT1 の発現強度はその強さと分布により、０（negative）、１（weak and partial）、２（intermediate and partial）、３（strong and partial, or intermediate and diffuse）、４（strong and diffuse）、の５段階で評価し、各々スコア化した。Ki-67 染色は、１次抗体として抗 Ki-67 モノクローナル抗体（DAKO, Carpinteria, CA, USA）を使用し、以下 WT1 染色と同様の過程で染色した。Ki-67 の発現が最も高い部分を 400 倍視野にて観察し、視野上の全細胞数に対する Ki-67 陽性細胞の比から、MIB-1 staining index（SI）（%）を計算し、腫瘍増殖能の指標とした。WT1 の発現強度と MIB-1 SI の相関の有無について統計学的

に解析した。また、各標本を観察し、WT1 発現の組織学的局在についても検討を加えた。結果は、WT1 は 73 例中 70 例で陽性であり、すべての glioma の subtype において、WHO grade の高い腫瘍で発現強度が強い傾向にあった。特に最悪性の glioblastoma（WHO grade 4）では、34 例中 31 例（91.2%）で score 3 以上の発現を示した。例外的に astrocytic tumor に属する WHO grade 1 の 2 症例では、強い WT1 の発現を認めた。WT1 発現強度と MIB-1 SI の間には、統計学的に有意な正の相関を認め、WT1 の発現強度が強くなるにつれ、MIB-1 SI も高くなることが示された。WT1 の発現は、旺盛な腫瘍増殖を示す血管周囲や細胞密度の高い部位では強い発現を示す一方、壊死周囲では弱い発現を示した。腫瘍と脳の境界部では、段階的に WT1 の発現が変化する様子が観察され、WT1 陽性の腫瘍細胞が脳内に浸潤している様子が観察された。

〔 総　　括 〕

WT1 蛋白には異なる isofrom が存在し、各々が各標的遺伝子の発現に様々な影響を及ぼしているとされる。これらの標的遺伝子のいくつかは、細胞周期の制御、細胞増殖、細胞死、腫瘍の悪性化において重要な役割を果たすとされているが、glioma における WT1 の役割については未だ不明な点も多い。本結果は WT1 が glioma においても細胞増殖や腫瘍の悪性化に関与している可能性を示唆している。加えて、WT1 蛋白が過剰発現していることより、glioma が WT1 ワクチン療法のよい標的となる可能性も示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、様々な glial tumor 73 例における WT1 蛋白の発現を免疫組織学的手法にて検出し、その発現強度と腫瘍増殖能との相関関係や組織学的な局在について検討したものである。WT1 蛋白の発現強度は 5 段階でスコア化（WT1 スコア）し、腫瘍増殖能の指標としては MIB-1 staining index（SI）を用いた。結果、73 例中 70 例（95.9%）で WT1 の発現を認め、悪性度の高い腫瘍で高い WT1 スコアを示す傾向にあった。WT1 スコアと MIB-1 SI の間には統計学的に有意な正の相関が認められた。組織学的には血管周囲や細胞密度の高い部位で発現が強く、壊死組織周囲では発現が弱いという特徴が見られた。本研究は、様々な glial tumor が WT1 ワクチン療法の対象となりえる事を示すと共に、WT1 遺伝子が glial tumor における細胞増殖過程に何らかの関係を有している可能性を間接的に示すものであり、学位に値するものと認める。