



Title	C4.4A Expression Is Associated with a Poor Prognosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma
Author(s)	大塚, 正久
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52000
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	大塚 正久
論文題名 Title	C4.4A Expression Is Associated with a Poor Prognosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma (食道扁平上皮癌におけるC4.4Aの発現は予後と関連する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 C4.4Aはラットの転移性脾腫瘍から同定されたGPIアンカー型の膜蛋白である。教室では、大腸癌におけるC4.4Aの発現について、大腸癌の先進部で発現する膜型C4.4Aが血行性転移と予後に関連していることを報告した。また、C4.4AがEpithelial-Mesenchymal Transition (EMT; 上皮間葉移行)を介して、tumor buddingを促進させることで大腸癌の浸潤に影響を与えていることも報告してきた。一方、食道癌は難治性であり、手術、化学・放射線治療の進歩にも関わらず、予後不良である。そのため、分子生物学的知見に基づく新規診断・治療法の開発が望まれる。 我々は、作成したC4.4A抗体を用いて食道扁平上皮癌におけるC4.4Aの発現、予後との関連性を評価し、どのような分子と協調して食道扁平上皮癌の進展に寄与するのかを明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ① 1998年から2007年に手術が施行された術前化学・放射線治療が施行されていない食道扁平上皮癌症例 111例を対象とし、2種類のC4.4A抗体(C4.4A-GPI抗体、C4.4A-119抗体)を用いWestern blottingと免疫染色を行った。その結果、Western blottingでは両抗体ともに、食道正常部では70kDa、食道癌部では60kDaの蛋白が発現していた。次にC4.4A-GPI抗体による免疫染色では、59.5%がC4.4A陽性であり、その中の多くの症例において細胞膜が染色される膜型C4.4A発現を認めた。予後評価を行うと、C4.4A陽性例では、陰性例に比べ有意に予後が悪い結果であった。更に、C4.4A膜型発現・細胞質型発現に分けて予後評価を行うと、C4.4A膜型発現群では陽性例が有意に予後の悪い結果となったが、C4.4A細胞質型発現群では陽性例と陰性例で予後に差を認めなかった。一方、C4.4A-119抗体による免疫染色では、85.6%が陽性であり、それらの症例全例が細胞質型の染色パターンを呈していた。予後評価において、C4.4A陽性例と陰性例において予後に差は認めず、更にC4.4A膜型発現・細胞質型発現に分けても予後に差は認めなかった。 ② ヒト大腸癌細胞株HCT116を用いて、コラーゲン3D培養下で発現が亢進し、3D培養下でC4.4Aをノックダウンすることで発現が減弱する細胞外基質・接着分子を対象としたPCR-arrayを行った。その結果、3D培養で発現が増強し、C4.4Aノックダウンによって発現が減弱する分子の中で、最もC4.4Aの発現と相関性を認めたのはTenascin-C(TNC)であった。PCR-Arrayの結果を確認するために、RT-PCRにて、C4.4Aの発現とTNCの発現の評価を行った。コラーゲン3D培養下にHCT116のC4.4Aをノックダウンすると、TNCの発現は減弱し、C4.4Aを強制発現させるとTNCの発現は増強していた。更にヒト食道癌細胞株TE8のC4.4Aを強制発現させるとTNCの発現は有意に増強していた。 ③ TNC抗体を用いた免疫染色にて、食道癌細胞が染色されるものを陽性と定義し、C4.4A陽性・陰性、TNC陽性・陰性の4群に分けて予後評価を行った。その結果、C4.4A陽性/TNC陽性群が最も有意に予後が悪い結果であった。一方、C4.4A陽性/TNC陰性の症例では、C4.4A陰性の症例に比べ予後に差は認めなかった。 〔総括(Conclusion)〕 食道扁平上皮癌において、C4.4A-GPI抗体による膜型C4.4A発現は予後不良の指標となることが示唆された。一方、C4.4A-119抗体は感度が高く、腫瘍マーカーとして有用であると考えられた。また、膜型C4.4Aが食道扁平上皮癌の予後不良に寄与するメカニズムにはTNCが関連していることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大塚 正久		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	森 正樹
	副 査 大阪大学教授	柳 俊郎
	副 査 大阪大学教授	竹原 敏郎

論文審査の結果の要旨

C4. 4AはGPIアンカー型の膜蛋白質で、様々な癌腫でその発現が報告されている。食道扁平上皮癌における、C4. 4Aの発現と予後との関係、また、C4. 4Aが影響を与える細胞外基質構成分子を同定することを目的に研究が行われた。食道扁平上皮癌111例のサンプルを、C4. 4A-GPI抗体・C4. 4A-119抗体の2種類を用いて免疫染色を行った。その結果、C4. 4A-GPI抗体にて膜型のC4. 4A発現を呈する症例では陰性例に比べ予後が悪い結果となった。一方、C4. 4A-119抗体では、予後に差を認めなかった。次に、膜型C4. 4Aがどのようなメカニズムで発現し、食道扁平上皮癌の悪性化に寄与するかを検討した。コラーゲン3D培養を用いた、PCR-Array、RT-PCRにてC4. 4A発現とTenascin-C (TNC) の発現が相関していることが分かった。

本研究によって、膜型C4. 4Aが食道扁平上皮癌の予後に影響を与え、C4. 4Aとコラーゲンとの相互作用によってTNCが誘導されて癌細胞の悪性化に関与していることがはじめて明らかとなった。

以上の内容は癌研究における新たな知見と考えられるため学位の授与に値すると考えられる。