

氏名(本籍)	みや はら なお き 宮原直樹(神奈川県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第3450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		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Expression of UDP-N-Acetyl-α-D-Galactosamine-Polypeptide GalNAc N-Acetylgalactosaminyl Transferase Isozyme 3 in the Subserosal Layer Correlates With Postsurgical Survival of Pathological Tumor Stage 2 Carcinoma of the Gallbladder (漿膜下浸潤(pT2)胆嚢癌におけるムチン型糖転移酵素 N-acetylgalactosaminyl transferase 3(GalNAc-T3)の発現様式と腫瘍生物学的意義について)		
主査	筑波大学教授	医学博士	大河内 信 弘
副査	筑波大学教授	医学博士	松 井 陽
副査	筑波大学助教授	医学博士	松 村 明
副査	筑波大学講師	医学博士	吉 澤 利 弘

論文の内容の要旨

(目的)

癌細胞の転移・浸潤などに強い影響を与えることが知られているムチン型糖鎖 MUC1 に糖鎖を付加する糖転移酵素 GalNAc-T3 の免疫組織学的発現様式について解析し、臨床病理学的諸因子および術後の生命予後との関連性について検討することで、本酵素の発現様式が pT2 胆嚢癌の悪性挙動にかかわる生物学的因子である可能性を明らかにする。

(対象と方法)

胆嚢摘出術を受けた胆嚢癌患者 79 例 (pT1 5 例, pT2 34 例, pT3 9 例, pT4 31 例) に発現する GalNAc-T3 を CompetitivePCR で mRNA レベルでの発現量を、ウエスタンブロットでタンパクレベルでの発現量を解析した。また胆道系腫瘍細胞株 9 種類に対しても同様に解析した。

次に切除縁癌浸潤陰性の pT2 胆嚢癌 34 例に対し抗 GalNAc-T3 特異抗体で免疫染色を行い、癌先進部及び非先進部における GalNAc-T3 の発現型を granular type (癌細胞核上部に顆粒状に GalNAc-T3 の染色を認めるもの) および diffuse type (癌細胞細胞質内に顆粒状の GalNAc-T3 の染色を認めず、びまん性に細胞質が染まっているタイプ) に分類し、臨床病理学的諸因子、術後再発様式・生存率の予後因子との関連性について検討した。

(結果)

ウエスタンブロットにて GalNAc-T3 は胆嚢癌、正常胆嚢組織、胆嚢癌細胞株の全てで認められた。中分化及び高分化型胆嚢癌では胆嚢癌患者の非癌部胆嚢および正常胆嚢と比べて GalNAc-T3 発現は亢進してきた。さらに GalNAc-T3 発現レベルは深達度が進むにつれて増加した。しかし、低分化型胆嚢癌における発現は低かった。胆嚢癌細胞株では中分化及び高分化型腺癌由来細胞株における GalNAc-T3 発現は低分化型腺癌由来細胞株に比較して高い傾向が見られた。

定量性 PCR にて、GalNAc-T3 は胆嚢癌患者の非癌部胆嚢および正常胆嚢と比べて胆嚢癌では発現が亢進していた。しかし癌の深達度との間に相関は認められなかった。組織分化度で比較すると、乳頭状腺癌における GalNAc-T3 発現は管状腺癌及び低分化型腺癌に比べて高い傾向が認められた。胆嚢癌細胞株において一定の傾向は認められなかった。

免疫組織化学において GalNAc-T3 は非癌上皮に比べて癌上皮で強く発現していた。非癌上皮で染色を認めたものは全て granular type であった。癌上皮では pT1 では全てが granular type であった。pT2 では腫瘍表層部では 82% が granular type で diffuse type が 18% であったのに対して、先進部では 50% が granular で 50% が diffuse であった。pT3 および pT4 では表層部で 53% が granular で 47% が diffuse、先進部では 23% が granular で 77% が diffuse であった。

pT2 胆嚢癌を上記染色パターンで 2 群に分けて比較したところ、臨床病理学的因子に有意な差は認められなかったが、転移性再発は diffuse type で有意に多く、5 年生存率も granular (86%) に比べ diffuse (48%) は有意に低かった。

(考察)

胆嚢における GalNAc-T3 の発現は癌部では非癌部に比べて有意に高く、深達度が進むと高発現になり、分化度が低くなると低発現となる傾向が認められた。

pT2 胆嚢癌において腫瘍先進部で GalNAc-T3 の分布が Diffuse-type を示すものは転移性再発を高頻度に生じていた。この発現の変化は組織分化度を含めた臨床病理学的因子と有意な関連は認められず、独立した予後規定因子と考えられた。

癌関連抗原として知られる MUC1 における糖の付加は癌の浸潤能・転移能に相関することが知られている。MUC1 側鎖に存在するシアル酸は E-カドヘリンを拮抗的に阻害することにより細胞間接着を阻害し、癌細胞の原発巣からの遊離を容易にすると言われている。本研究により示された胆嚢癌における GalNAc-T3 の発現上昇と分布の変化は MUC1 の糖付加に寄与し、腫瘍細胞の転移能・浸潤能の獲得に重要な役割を果たしていると考えられた。

(結論)

胆嚢癌において GalNAc-T3 の発現型 pT2 胆嚢癌の悪性挙動を反映し、予後を規定する重要な生物学的因子である可能性が示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、癌の転移に深く関与している糖鎖抗原 MUC-1 に糖鎖を付加する糖転移酵素 GalNAc-T3 の発現量および発現形式を、癌細胞の蛋白量および mRNA の発現から評価し、病理所見、脈管浸潤、リンパ節転移、腹膜播種などのこれまで悪性度の規定因子といわれている項目と比較検討している。その結果、GalNAc-T3 がいずれの因子とも関連しない独立した予後規定因子であることを進行胆嚢癌において初めて明らかにした点が高く評価される。今後、癌の浸潤、転移メカニズムの研究に新たな展開が期待できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。