

氏名・(本籍)	たかしましのぐ 高嶋 祉之具 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第868号
学位授与の日付	平成26年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Strong expression of cyclin B2 mRNA correlates with a poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer (Cyclin B2 mRNAの高発現は、非小細胞肺癌の予後不良に関連する)
論文審査委員	(主査) 教授 伊藤 宏 (副査) 教授 後藤 明輝 教授 田中正光

学位論文内容要旨

論文題名

Strong expression of cyclin B2 mRNA correlates with a poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer

(Cyclin B2 mRNAの高発現は、非小細胞肺癌の予後不良に関連する)

申請者氏名 高嶋祉之具

研究目的

最新の我が国の癌統計において、肺癌は部位別癌死亡率第1位であり、手術後の5年生存率は未だ満足出来るものではない。そのため、さらなる予後因子の同定、解析が必要と考えられる。

真核生物において細胞周期は複数のチェックポイントで監視されているが、そこで中心的な役割を果たしているのが Cyclin と Cyclin 依存性キナーゼ(CDK)の複合体である。Cyclin B2 は CDK1 との複合体を形成し G2/M 期のチェックポイントを制御していると考えられており、現在まで複数の固形癌でその高発現が予後不良因子と報告されている。しかしながら現在のところ肺癌における予後との関連性についての報告はなく、今回我々は原発性非小細胞肺癌における Cyclin B2 の発現と予後との関連性を検討した

研究方法

1997年から2006年に秋田大学にて標準的肺葉切除及び2郡リンパ節廓清術を施行した原発性非小細胞肺癌79例(腺癌49例 扁平上皮癌30例)を対象とした。

新鮮標本を用いて Real-time PCR を行い、検体それぞれの Cyclin B2 mRNA level を測定し、臨床病理学的因子、生存率との関連性を検定した。

パラフィン包埋された標本より薄切切片を作成し、免疫染色を行い Cyclin B2 蛋白発現パターンを検討した。浸潤癌部分の10%以上が中等度以上に染まるものを陽性と判断し、それぞれの検体において mRNA level との関連性を検定した。また、一部の使用可能な検体において Western blotting 法によって、Cyclin B2 蛋白量を半定量し、mRNA level と関連性を検定した。

研究成績

Real-time PCR の測定結果から Receiver-operating-characteristic (ROC) 曲線を用いて Cyclin B2 mRNA level の cut off 値を設定し、Cyclin B2 mRNA level “high” (n=32)及び“low” (n=47)の2群に振り分けた。

CyclinB2 mRNA level は、年齢、性別、腫瘍径、脈管浸潤の有無、病理学的進行度では両群に有意差は認めなかったが、分化度(高分化な程 Cyclin B2 mRNA level が低い)、及び組織型(腺癌で Cyclin B2 mRNA level が低い)で両群に有意差を認めた(各々 $p=0.007$ 、 $p=0.0001$)

免疫染色において Cyclin B2 蛋白は癌細胞の細胞質部分で発現を認めた。研究方法で示した通りに判定し23例を陰性、56例を陽性に振り分けた。それぞれの検体で免疫染色での蛋白発現パターンと RT-PCR での mRNA level の関連性を検討したところ、若干の傾向はあるものの両者に有意な関連性は認められなかった。また使用可能な一部の検体を用いて Western blotting 法で蛋白量を半定量し mRNA level との関連性も検討したが、同様に有意な関連性は認めなかった。

生存曲線では5年生存率及び無病生存率において、Cyclin B2 mRNA level “high”群は“low”群に比較して有意に低かった(各々 72.7% vs 47.0% $p=0.01$ 、 62.5% vs 41.1% $p=0.036$)。また、組織型を腺癌に限定して解析したところ同様に5年生存率において Cyclin B2 mRNA level “high”群は“low”群に比較し有意に低かった(77.9% vs 37.5% $p=0.004$)。一方で組織型を扁平上皮癌に限定すると両群の生存率には有意差を認めなかった。

年齢、性別、腫瘍径、分化度、リンパ節転移、脈管侵襲、CyclinB2 mRNA level の項目において多変量解析を行ったところ男性 [HR 9.81 95%CI(1.04-215.22) $p=0.044$]、2群リンパ節転移陽性 [HR146.26 95%CI(8.76-539.94) $p<0.001$]、及び Cyclin B2 mRNA level “high” [HR7.21 95%CI(1.37-43.17) $p=0.021$] において5年生存率で有意に低かった。これにより Cyclin B2 mRNA の高発現は肺癌術後、特に肺腺癌の独立した予後不良因子であることが示された。

結論

CyclinB2 mRNA の高発現は、非小細胞肺癌、特に肺腺癌の予後不良に関連する。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主査 伊藤 宏

申請者 高嶋祉之具

論文題名

Strong expression of cyclin B2 mRNA correlates with a poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer

(Cyclin B2 mRNA の高発現は、非小細胞肺癌の予後不良に関連する)

要旨

肺癌は部位別癌死亡率第 1 位であり、手術後の 5 年生存率は未だ満足出来るものではない。そのため、さらなる予後因子の同定、解析が必要と考えられる。一方、真核生物において細胞周期は複数のチェックポイントで監視されているが、そこで中心的な役割を果たしているのが Cyclin と Cyclin 依存性キナーゼ (CDK) の複合体である。Cyclin B2 は CDK1 との複合体を形成し G2/M 期のチェックポイントを制御していると考えられており、現在まで複数の固形癌でその高発現が予後不良因子と報告されている。申請者らは原発性非小細胞肺癌における Cyclin B2 の発現と予後との関連性を検討した。

1997 年から 2006 年に秋田大学にて標準的肺葉切除及び 2 郡リンパ節廓清術を施行した原発性非小細胞肺癌 79 例(腺癌 49 例 扁平上皮癌 30 例)を対象に、新鮮標本を用いて Real-time PCR を行い、検体それぞれの Cyclin B2 mRNA level を測定し、臨床病理学的因子、生存率との関連性を検定した。

生存曲線では 5 年生存率および無病生存率において、Cyclin B2 mRNA level “high” 群は “low” 群に比較して有意に低かった(各々 72.7% vs 47.0% $p=0.01$ 、62.5% vs 41.1% $p=0.036$)。また、組織型を腺癌に限定して解析したところ同様に 5 年生存率において Cyclin B2 mRNA level “high” 群は “low” 群に比較し有意に低かった(77.9% vs 37.5% $p=0.004$)。組織型を扁平上皮癌に限定すると両群の生存率には有意差を認めなかった。これにより Cyclin B2 mRNA の高発

現は肺癌術後、特に肺腺癌の独立した予後不良因子であることが示された。

本論文の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

各種の癌予後マーカーは多くの先行研究で検討されているが、Cyclin B2 を肺癌の予後マーカーとして検討した論文は本論文が初めてである。その意味できわめて斬新な研究であると言える。

2) 重要性

肺癌は部位別癌死亡率第 1 位であり、手術後の 5 年生存率は未だ満足出来るものではない。そのため、さらなる予後因子の同定、解析が必要と考えられる。本研究はあらたな肺癌予後マーカーの開発につながる可能性があり、臨床上重要である。

3) 研究方法の正確性

mRNA 測定は Real-time PCR を用い、その他にも免疫組織学的検討、Western blotting により mRNA レベルとの挿間性を検討するなど、研究手法は正確に行われている。統計手法も妥当であり、高い正確性をもった研究である。

4) 表現の明瞭さ

論文は論理的にも表現的にも明瞭に書かれている。英文についても問題ない。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。