

氏名	田中 英治
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3128号
学位授与の日付	平成19年5月23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	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	The Clinical Significance of Aurora-A /STK15/BTAK Expression in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma. (食道扁平上皮癌における Aurora-A /STK15/BTAK 発現の臨床的意義)
論文調査委員	(主査) 教授 千葉 勉 教授 鍋島 陽一 教授 松本 智裕

論文内容の要旨

【緒言】手術手技の進歩、補助化学療法の発達にもかかわらず、食道癌の予後は不良であり、新たな治療標的となりうる遺伝子の検索が求められている。これまで、食道扁平上皮癌においては高頻度に染色体 20q13 の gene amplification が報告されているが、この領域に存在する癌遺伝子の候補は同定されていなかった。近年染色体分配に関与する分裂期 kinase として 20q13 上に存在する Aurora-A (Aurora kinase A) が報告された。種々の癌種において Aurora-A の過剰発現が認められ、悪い患者予後、悪性度と関係している事が報告されている。また、子宮頸癌細胞株 HeLa に Aurora-A を導入すると Taxane 系薬剤への抵抗性が上がり、膀胱癌細胞株 MIA Paca-2A に siRNA を用いて Aurora-A 発現を抑制する事により Taxane 系薬剤への抵抗性が下がる事も報告されている。本研究は食道扁平上皮癌における Aurora-A 発現の意義について検討した。

【材料と方法】(1) 当科において 1990-2001 に切除された原発食道扁平上皮癌 33 組織を RT-PCR 法により、142 組織を免疫染色法により、Aurora-A mRNA 及び蛋白発現を検討し、それぞれ臨床病理学的検討を行った。(2) また、食道癌細胞株 9 株及び正常食道上皮細胞株における Aurora-A の発現を Western blot 法にて調べ、細胞株における Aurora-A の発現と Docetaxel 感受性の関連を tetrazolium salt-based proliferation assay (WST assay) にて調べた。(3) Aurora-A 高発現株である KYSE510 に対し Aurora-A shRNA 発現ベクターを導入し、Aurora-A 発現抑制株を作成し、Western blot 法により発現抑制を確認した。Aurora-A 発現抑制株における、増殖能 (*in vitro*, *in vivo*; ノードマウス皮下接種) を検討し、フローサイトメトリーによる細胞周期変化を調べた。さらに、Aurora-A 発現抑制株 Docetaxel 感受性の変化を *in vitro* において、WST assay, cell count により検討し、*in vivo* においてもノードマウスを用いた皮下腫瘍形成モデルで検討にて行った。

【結果】(1) 食道癌組織において Aurora-A が強発現している症例は RT-PCR (10/33)、免疫染色 (75/142) とも有意に予後不良であり ($p=0.003$ $p=0.001$)、免疫染色における Aurora-A 高発現は遠隔リンパ節転移との相関が認められ、また T, N, M とは独立した予後因子であった。(2) 食道癌細胞株では正常食道上皮細胞株に比して全細胞株 (9/9 株) で Aurora-A 強発現を認め、なかでも Aurora-A 強発現株では低発現株に比し Docetaxel への感受性の低下を認めた。(IC50: 低発現株= 2.4×10^{-8} M, 高発現株= 4.9×10^{-7} M) (3) shRNA を用いた Aurora-A の発現抑制により、G2 arrest によると示唆される増殖抑制を *in vitro* (38.7%), *in vivo* (36.1%) において示し、また、Aurora-A 発現抑制により、Docetaxel への感受性の増強が、*in vitro* (IC50: shRNA transfectant= 2.7×10^{-7} M, mock transfectant= 4.8×10^{-7} M)、*in vivo* ($p=0.03$) いずれにおいても示された。

【結論】Aurora-A の発現増強は食道癌の悪性度ならびに化学療法耐性と関係していることが示唆され、Aurora-A が食道癌の新たな治療標的になる可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は食道扁平上皮癌において染色体分配に関連した新規癌遺伝子 Aurora-A 発現の臨床的意義を検討した。

食道癌組織における Aurora-A の発現を RT-PCR、免疫染色により調べたところ、Aurora-A の高発現は、RT-PCR(10/33)、免疫染色 (75/142) いずれにおいても遠隔リンパ節転移と相関し、高発現例の予後は、有意に不良であった。また、免疫染色における Aurora-A 高発現は、T (壁深達度), N (リンパ節転移), M (遠隔リンパ節転移) とは独立した予後因子であった。続いて細胞株にわたる Aurora-A の発現を調べたところ、正常食道上皮細胞株に比して食道癌細胞株では全細胞株 (9/9 株) で Aurora-A の発現は高く、特に Aurora-A 高発現株では低発現株に比し Docetaxel への感受性の低下を認めた。さらに、shRNA を用いた Aurora-A の発現抑制により、*in vitro*、*in vivo* いずれにおいても増殖が抑制され、Docetaxel に対する感受性が増強した。

本研究は食道扁平上皮癌における Aurora-A の発現と、癌進展及び化学療法 (Docetaxel) への感受性との関連を解明し Aurora-A を target とした新たな食道扁平上皮癌治療の展開に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 3 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。