

氏 名	伊 東 真 哉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2966 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 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	Expression of MAGE - D4, a novel MAGE family antigen, is correlated with tumor - cell proliferation of non - small cell lung cancer. (新規遺伝子 MAGE-D4 の発現は非小細胞肺癌における腫瘍細胞増殖に相關する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 福 島 雅 典 教 授 小 野 公 二

論 文 内 容 の 要 旨

背景：Melanoma associated antigen (以下 MAGE) family は、ヒト悪性黒色腫細胞株において同定された腫瘍特異抗原としての性質を持つ遺伝子群である。これまでに約20のホモログが報告されている。MAGE-A ～ Cの一部は、MHC class I を介し抗原提示され、Cytotoxic T lymphocyte に認識される。その性質を利用した免疫療法も試みられている。岡崎国立共同研究機構生理学研究所神経情報部門(池中一裕教授)との共同研究において、高悪性度の脳腫瘍である悪性膠芽腫 (glioblastoma) に高発現する新規遺伝子 MAGE-D4 がクローニングされ、そのゲノム構造と遺伝子座を明らかにされた。(Sasaki et al. Cancer Res. 2001 61:4809-4814, Kawano et al. Gene. 2001 277:129-137) MAGE-D family の一部や Necdin において、特定の細胞のアポトーシスや細胞周期の調節に関与することが解っているが、MAGE-D4 の機能や臨床的意義については未だ解明されていない。

目的：新規遺伝子 MAGE-D4 の非小細胞肺癌における発現、さらに MAGE-D4 が有用な予後因子あるいは肺癌の診断あるいは治療に有用な分子標的になりうるかを検討する。

対象と方法：MAGE-D4 の細胞内局在を検討する為に、肺癌細胞株 (A-549) を用いて、ウサギ抗ヒト MAGE-D4 ポリクローナル抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。肺癌切除標本を用いて、mRNA レベル (real time PCR), 蛋白レベル (Western blot) での発現解析を行った。さらに、1985年-1990年に京都大学呼吸器外科で手術を施行した非小細胞肺癌の臨床検体200例 (病理病期 I - III A 期) を対象とし、同抗体を用いて免疫染色を行った。腫瘍細胞の染色強度および染色範囲に基づいて、MAGE-D4 高発現群と MAGE-D4 低発現群に分類した。肺癌の組織型、分化度、進行度などの臨床病理学的因子や他の生物学的パラメーターとの相関についても検討した。

結果：mRNA,蛋白レベルでは、非小細胞肺癌の腫瘍部で非腫瘍部 (正常肺) と比較し MAGE-D4 の発現亢進がみられた。細胞株での細胞内局在の検討では、MAGE-D4 の発現が細胞分裂期に高く、 β -tubulin の分布に近いことが明らかになった。非小細胞肺癌の手術症例200例中121例が MAGE-D4 高発現、79例が低発現であった。組織型別では、腺癌に比し扁平上皮癌で有意に高発現であった ($p < 0.01$)。MAGE-D4 発現は年齢・性別・病理病期別では有意差を認めなかった。MAGE-D4 高発現群では細胞増殖係数が有意に高値であり ($p < 0.001$)、p53 異常発現と相関を認めた ($p = 0.012$)。MAGE-D4 発現と予後との間に相関を認めなかった ($p = 0.898$)。

結語と考察：MAGE-D4 蛋白の局在は β -tubulin の局在にパラレルであり、微小管の形成に何らかの関与を持つ可能性があると考えられた。MAGE-D4 は非小細胞肺癌、特に扁平上皮癌において高発現であった。MAGE-D4 発現と予後との間に相関を認めなかったが、非小細胞肺癌において MAGE-D4 が細胞分裂・増殖に関与しており肺癌治療の分子標的となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

Melanoma associated antigen (MAGE) はメラノーマにおいて同定された腫瘍特異抗原である。MAGE-D4 遺伝子は悪性膠芽腫に高発現する新規遺伝子として2001年に同定されたが、その機能や臨床的意義は未だ不明である。MAGE-D family の一部は細胞周期の調節に関与することが解っている。本研究では、非小細胞肺癌における MAGE-D4 の発現を mRNA レベル、蛋白レベルで検討した。非小細胞肺癌の42例の検討では、非腫瘍部と比較して腫瘍部で MAGE-D4 mRNA が有意に高発現であった ($p=0.002$)。臨床検体200例を対象とし、抗 MAGE-D4 抗体を用いて免疫組織学的検討を行った。腫瘍細胞 MAGE-D4 発現、腫瘍細胞の増殖能、p53 過剰発現を検討した。腫瘍細胞 MAGE-D4 高発現は腺癌と比べ扁平上皮癌に有意に多く認められた ($p=0.008$)。MAGE-D4 高発現群では、細胞増殖係数が有意に高く ($p<0.001$)、p53過剰発現が有意に多い傾向を認めた ($p=0.012$)。肺癌細胞株を用いて蛍光免疫染色を行ったところ分裂期に MAGE-D4 が強く発現していた。以上の結果から、非小細胞肺癌において MAGE-D4 が腫瘍細胞の分裂・増殖に関与していることが示唆された。

以上の研究は、肺癌の増殖機序の解明に貢献し、胸部外科学の発展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18年2月1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。