

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	山 田 敦
論文題目	Aberrant expression of EZH2 is associated with a poor outcome and P53 alteration in squamous cell carcinoma of the esophagus (EZH2 の異常発現は食道扁平上皮癌の予後不良および P53 の変化と関連する)		
(論文内容の要旨)			
EZH2 と BMI1 はポリコーム蛋白群を構成する蛋白であり、クロマチンの修飾を介して種々の遺伝子の転写抑制にはたらく。EZH2 は RUNX3 や E-cadherin などの癌抑制遺伝子の発現を抑制することが知られている。ヒトの前立腺癌や乳癌などでは EZH2 発現が亢進し、高発現が予後不良と関連する。一方、BMI1 もヒトの癌組織で発現亢進することが報告されている。食道扁平上皮癌は消化管癌の中でも予後不良な癌の一つである。この研究の目的は食道扁平上皮癌における EZH2 および BMI1 蛋白発現の意義を臨床病理学的所見および予後との関連について明らかにすることである。 根治目的の外科的切除術を施行された食道扁平上皮癌 1 3 6 例を対象として、免疫組織化学染色により癌部と近傍の非癌部における EZH2 および BMI1 蛋白発現を検討した。癌細胞の 5%以上が発現陽性の場合をそれぞれの蛋白の異常発現と定義し、食道扁平上皮癌における EZH2 および BMI1 の異常発現と臨床病理学的所見や予後との相関を解析した。EZH2 異常発現に関わる因子を明らかにするために、一部の症例で MYC、RB、P53 の蛋白発現と EZH2 異常発現との相関を検討し、P53 遺伝子変異の有無を Direct sequencing 法により調べた。食道扁平上皮癌細胞株である TE-1 は温度感受性の変異 P53 蛋白を有することが知られている。すなわち TE-1 の変異 P53 蛋白は 3 2℃条件下では転写活性を示すのに対して 3 7℃条件下では転写活性を示さない。一方で別の食道扁平上皮癌細胞株 TE-10 が有する変異 P53 蛋白は温度にかかわらず転写活性をもたない。このような特徴を有する TE-1 と TE-10 を 3 2℃および 3 7℃条件下で培養し、EZH2 mRNA の発現をリアルタイム RT-PCR 法により調べた。 EZH2 および BMI1 蛋白の発現は食道扁平上皮癌において近傍の非腫瘍性食道上皮と比較して亢進していた。食道扁平上皮癌において EZH2 異常発現は 1 4 . 0 %で認められ、腫瘍径、深達度、遠隔転移、および無病生存期間の短縮と有意に相関した。BMI1 異常発現は食道扁平上皮癌組織の 1 6 . 9 %に認め、リンパ節転移および静脈侵襲と負の相関を示したが生存期間とは相関しなかった。一部の症例について MYC、RB、P53 の蛋白発現と EZH2 異常発現との相関を検討したところ、EZH2 異常発現は P53 蛋白陽性と有意に相関していた。Direct sequencing 法により P53 遺伝子変異の有無を調べたところ、P53 蛋白陽性例では P53 遺伝子変異を認めた。細胞株を用いた検討では TE-1 を 3 2℃で培養した場合には 3 7℃で培養した場合と比較して EZH2 mRNA の発現が有意に低く、P53 蛋白が転写活性を示さない場合に EZH2 mRNA の発現が亢進すると考えられた。TE-10 は温度変化により EZH2 mRNA の発現に有意な差を認めなかった。 この研究により食道扁平上皮癌組織において EZH2 および BMI1 蛋白発現が亢進していることが明らかとなった。EZH2 異常発現は腫瘍径、深達度、遠隔			

転移、および無病生存期間の短縮と関連し、BMI1 異常発現はリンパ節転移および静脈侵襲と負の関連を示したが生存期間とは関連しなかった。EZH2 異常発現は P53 蛋白陽性と関連し、食道扁平上皮癌細胞株を用いた検討でも P53 蛋白が EZH2 発現に関与していることが示唆された。これらの結果から食道扁平上皮癌において P53 の変化が EZH2 の発現亢進に関与し、異常発現した EZH2 が癌の進展に寄与している可能性が考えられた。 (論文審査の結果の要旨) ポリコーム蛋白である EZH2 と BMI1 は遺伝子の転写抑制にはたらき、発癌に寄与すると考えられる。申請者は本研究で、食道扁平上皮癌の外科切除例を対象として EZH2 および BMI1 蛋白の発現を免疫組織化学染色により調べ、EZH2 と BMI1 の異常発現と臨床病理学的所見や予後との関連を検討した。また EZH2 異常発現に関与する因子を明らかにするため、MYC、RB、P53 蛋白発現および <i>P53</i> 遺伝子変異を調べた。さらに温度感受性の変異 P53 蛋白を有する食道扁平上皮癌細胞株 TE1 を用いて、P53 転写能と EZH2 発現との関連を調べた。 EZH2 と BMI1 はともに食道扁平上皮癌で非癌部と比較して蛋白発現が亢進していた。EZH2 異常発現は食道扁平上皮癌の腫瘍径、深達度、遠隔転移と関連し、無病生存期間が有意に短かった。BMI1 異常発現はリンパ節転移および静脈侵襲と負に関連したが無再発生存期間とは関連しなかった。また EZH2 異常発現は P53 蛋白陽性と関連し、一部の症例で <i>P53</i> 遺伝子変異を認めた。TE1 を用いた検討では P53 蛋白の転写能が亢進すると EZH2 mRNA の発現が有意に低下した。 以上より食道扁平上皮癌の EZH2 異常発現が予後および P53 の変化と関連することが明らかとなり、食道扁平上皮癌において P53 の変化が EZH2 の発現異常に関与し、EZH2 異常発現が癌の進展に寄与する可能性が示唆された。 以上の研究は食道扁平上皮癌の発生・進展におけるポリコーム蛋白の意義の解明に貢献し、消化器病学に貢献するところが多い。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 23 年 1 月 19 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			