

論文内容の要旨

Chaperone protein-L-isoaspartate (D-aspartyl) O-methyltransferase as a novel predictor of poor prognosis in lung adenocarcinoma

(肺腺癌における新たな予後不良予測因子としての PIMT)

(齋藤平佐, 山下雅大, 小笠原正人, 新里美幸, 山田範幸, 友保信, 出口博之, 谷田達男, 石田和之, 菅井有, 山内広平)

(Human Pathology 50 巻 平成 28 年 4 月掲載)

I. 研究目的

小胞体ストレスとは、酸化ストレス等で引き起こされた変性蛋白質が小胞体に蓄積し、その結果として細胞の正常機能が喪失されることである。細胞には小胞体ストレスから回避し恒常性を維持する機能が備わっており、この小胞体ストレスに対する反応は小胞体ストレス応答として知られている。小胞体ストレス応答にも関わらず細胞が恒常性を維持できない場合、細胞はアポトーシスへ誘導され様々な疾患を発症することが報告されている。

分子シャペロンは小胞体ストレス応答により誘導される蛋白質であり、変性蛋白質を正常蛋白質へ修復する機能を有し、小胞体ストレスを軽減している。

癌細胞で変性蛋白質凝集が亢進することは知られており heat shock protein(HSP)90 等の分子シャペロンの発現亢進が予後不良と相関するという報告がなされた。分子シャペロンを標的とした新しい癌治療戦略が期待されている。

Protein-L-isoaspartate (D-aspartyl) O-methyltransferase (PIMT) は分子シャペロンであり、酸化ストレス等で異性体変化を生じたアスパラギン残基構造を本来のアスパラギン残基構造へ修復する役割を果たし、正常高次構造に折り畳まれずに生じた変性蛋白質の蓄積を回避することで小胞体ストレスを軽減する。PIMT の肺癌を含めた全癌腫における動態は知られていない。

本研究では、PIMT の研究を通じて肺癌と分子シャペロンの関係を包括的に捉え、PIMT が肺癌の新たな治療戦略につながるか検討する。

II. 研究対象ならび方法

2004 年 4 月から 2010 年 12 月までに本学で外科的肺葉切除された肺腺癌患者 208 例を対象とした。肺組織のパラフィンブロックから肺組織スライドを作成し、それらのスライドにおける PIMT、小胞体ストレス応答により誘導される主要の分子シャペロンである 78-kDa glucose-regulated proteins (GRP78) ならびにがん抑制遺伝子である p53 の発現について自動免疫染色装置を用いて確認した。PIMT, GRP78 ならびに p53 の発現強度を半定量化し、発現強度と患者予後 (5 年生存率) との関連を Kaplan-Meier curve, log-rank test, Cox proportional hazard model を用いて後方視的に検討した。

III. 研究結果

1. PIMT ならびに GRP78 の発現は、正常肺組織部位では肺泡マクロファージに局限しており、肺癌組織部位では癌細胞の細胞膜ならびに細胞質に認めた。p53 の発現は、正常肺組織部位では認めず、肺癌組織部位では癌細胞の核に認めた。
2. PIMT では弱発現 102 例 (49.0%)、強発現 106 例 (51.0%) であった。PIMT の発現は非浸潤癌(preinvasive lesions and minimally invasive adenocarcinoma)症例(a)または stage I 症例(b)で弱く、浸潤癌(invasive adenocarcinoma)症例または stage II-IV 症例で強い結果だった (a ; p=0.002, b ; p<0.001)。
3. GRP78 では弱発現 106 例 (51.0%)、強発現 102 例 (49.0%) であった。GRP78 の発現も非浸潤癌症例(c)または stage I 症例(d)で弱く、浸潤癌症例または stage II-IV 症例で強い結果だった (c ; p=0.003, d ; p<0.001)。
4. p53 では弱発現 118 例 (56.7%)、強発現 90 例 (43.3%) であった。p53 の発現も非浸潤癌症例(e)または stage I 症例(f)で弱く、浸潤癌症例または stage II-IV 症例で強い結果だった (e ; p<0.001, f ; p<0.001)。
5. 肺腺癌患者 208 例の癌組織部位における PIMT 発現と GRP78 発現に正の相関を認めた [Spearman correlation test (r=0.629, p<0.001)]。
6. 肺腺癌患者 208 例の癌組織部位における PIMT 発現と p53 発現に正の相関を認めた [Spearman correlation test (r=0.272, p<0.001)]。
7. 肺腺癌患者 208 例の癌組織部位における PIMT(g), GRP78(h)ならびに p53(i) 発現は強発現であるほど予後不良であった [g ; log-rank test (p<0.001), h ; log-rank test (p<0.001), i ; log-rank test (p<0.001)]。多変量解析では喫煙(j), 術後 stage 分類(k), PIMT(1)ならびに GRP78(m)が独立した予後予測因子であったが、PIMT が最も予後不良に寄与していた [j ; Cox regression analysis (hazard ratio : 2.54, 95% confidence interval : 1.24-5.20, p=0.011) , k ; Cox regression analysis (hazard ratio : 3.93, 95% confidence interval : 1.99-7.76, p<0.001), l ; Cox regression analysis (hazard ratio : 6.45, 95% confidence interval : 2.46-16.9, p<0.001), m ; Cox regression analysis (hazard ratio : 3.15, 95% confidence interval : 1.38-7.18, p=0.006)]。
8. 肺腺癌患者 208 例のうち stage I 期 154 症例において、PIMT(n)と GRP78(o) 発現は強発現であるほど予後不良であったが [n ; log-rank test (p<0.001), o ; log-rank test (p<0.001)] , p53(p) 発現は予後と相関なかった [p ; log-rank test (p=0.499)]。多変量解析では喫煙(q)と PIMT(r)が独立した予後予測因子であったが、PIMT が最も予後不良に寄与していた [q ; Cox regression analysis (hazard ratio : 5.88, 95% confidence interval : 2.19-15.7, p<0.001) , r ; Cox regression analysis (hazard ratio : 6.81, 95% confidence interval : 1.79-25.8, p=0.005)]。
9. 肺腺癌患者 208 例のうち stage II-IV 期 54 症例において、PIMT(s), GRP78(t)ならびに p53(u) 発現は強発現であるほど予後不良であった [s ; log-rank test (p<0.001), t ; log-rank test (p=0.005), u ; log-rank test (p=0.019)]。多変量解析では PIMT(v) が唯一の独立した予後予測因子であった [v ; Cox regression analysis (hazard ratio : 7.39, 95% confidence interval : 1.70-32.0, p=0.008)]。

IV. 結 語

肺腺癌組織における PIMT 発現は浸潤癌あるいは進行期癌であるほど強発現であった。PIMT 強発現は術後 stage に関わらず独立した予後不良因子であった。早期癌症例であっても PIMT 強発現症例は術後化学療法の対象となる可能性が示唆される

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 諏訪部 章 (臨床検査医学講座)

副査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)

副査 講師 鈴木 順 (内科学講座：呼吸・アレルギー・膠原病内科分野)

肺癌は日本における癌死亡の第1位であり、有効な治療法の開発と並行して、早期診断法や予後予測指標の確立が治療戦略として望まれている。中でも、肺腺癌は肺癌の中で最も多く、有効な予後予測マーカーが存在しないのが現状である。本研究では、小胞体ストレスに關与する分子シャペロンの一つである、Protein-L-isoaspartate (D-aspartyl) O-methyltransferase (PIMT) に着目し、106例の肺腺癌患者の手術材料から肺癌組織を免疫染色し、その染色強度を半定量的に判定し、癌の浸潤度、stage分類および治療予後(5年生存率)との関連性を検討した。その結果、PIMTは、肺癌組織で強く発現し、浸潤癌症例またはstage II-IV症例で強い結果であった。これは、同じ分子シャペロンである78-kDa glucose-regulated proteins (GRP78)と同様の結果であったが、多変量解析の結果、GRP78と異なり、PIMTは独立した予後予測因子であった。さらに、PIMTは、stage I期症例では、その発現が強いほど予後不良であることが判明した。このことは、PIMTが肺腺癌の重要な予後予測因子となる可能性を示すとともに、臨床的なstage分類が、必ずしも予後予測因子とはならない可能性を示唆する点で大変興味深い。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

肺癌の臨床疫学、診断、治療、分子シャペロンの役割について試問し、適切な解答を得た。学位に値する学識と指導能力を有することを認めた。

参考論文

1. 肺大細胞神経内分泌癌 (森川直人, 他1名と共著) 呼吸, 33巻, 3号, 2014年3月掲載
2. 抗腫瘍薬 (森川直人, 他1名と共著) 呼吸, 33巻, 9号, 2014年9月掲載