

研究テーマ：癌における染色体パッセンジャー蛋白の発現	
研究代表者（職氏名）：教授 嶋本文雄	連絡先（E-mail 等）：082-251-9764 simamoto@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者（職氏名）：教授 高田隆（広島大学歯学部）， 助教 西岡和恵	

1．大腸鋸歯状腫瘍（鋸歯状腺癌、鋸歯状線腫、過形成ポリープ）における Survivin, Aurora B の発現態度の検討

【材料と方法】 内視鏡的並びに手術的に切除された鋸歯状腺腫 110 例、鋸歯状腺癌 21 例を用いて、抗 Survivin polyclonal 抗体（（フナコシ）1：1000 希釈）、抗 Aurora B monoclonal 抗体（（BD Bioscience）1：50 希釈）を用いて免疫染色にて Survivin と Aurora B の発現を腫瘍細胞の核（N）と細胞質（C）についてそれぞれを判定した。

【成績】 110 例の腺腫では、Survivin は、N と C に発現し、N+C+群は 20.9%、N+C-群は 27.3%、N- C+群 15.5%、N- C-群は 36.4%を示した。同様に鋸歯状腺癌では、それぞれ 42.9%、33.3%、19.0%、並びに 4.8%であった。一方 AuroraB は、核の発現がほとんどを占め腺腫では 56.4%で、その中で Survivin N+/C+群に有意に頻度が高かった。腺腫に比較して 鋸歯状腺癌で 85.7%有意に腺癌に多く発現していた。さらに腺腫の異型度に比例して Aurora B の発現が高かった。

【結論】 今回の検討により、Survivin が、HP SA SACA sequence にしたがって、細胞分裂に関与する染色体パッセンジャータンパクの Aurora B とともにその発現が増強したことは、抗アポトーシスならびに細胞分裂の 2 つの機能を持つ Survivin が、鋸歯状ポリープの組織発生には、重要な因子と考えられた。

2．通常の進行膵癌、I P M N 由来非浸潤癌ならびに浸潤癌、膵管内線腫、膵管上皮過形成における Survivin, Aurora B 発現態度ならびに粘液形質の発現態度における臨床病理学的検討

【材料と方法】 手術的に切除された進行膵癌 53 例と I P M N 由来非浸潤癌 41 病変ならびに浸潤癌 15 病変、膵管内線腫 81 病変、膵管上皮過形成 25 病変を用い、1 と同様に免疫組織学的に Survivin, Aurora B についてがん細胞内の細胞質、核に分けて検討した。また粘液形質については、MUC 1,2,5,6,HGM, SIMA, pS2 について、それらの発現を免疫組織学的に染色した。

【成績、結論】 通常の膵臓癌ならびに IPMN の病変では、染色体パッセンジャータンパク (Survivin,Aurora B) の通常の進行膵癌と IPMN 由来の進行膵癌での発現は、上皮内癌、腺腫、過形成病変に比較して発現が強く見られた。生物学的な態度からみても、発生母地は異なっても、進行がんの場合は同様な予後であるという事実を、染色体パッセンジャータンパクの発現が示していた。

各種の粘液形質の検討では、予後不良因子の MUC 1、さらに胃型形質の HGM, pS2 の発現が、進行癌に強く高頻度に認められた。一方予後の良いマーカーの MUC 2 の発現はごく一部にしか認められなかった。

3. 甲状腺腫瘍(甲状腺癌、甲状腺過形成病変)における細胞分画での Survivin の検討ならびに免疫組織学的染色体パッセンジャー蛋白の発現の検討

【材料と方法】

1) 免疫組織学的検索 材料

外科的切除をされた甲状腺病変の甲状腺種、良性並びに悪性腫瘍 117 症例を対象とした。甲状腺腫(過形成)6 例, 分化型乳頭癌(高分化)83 例, 低分化型癌 24 例, 未分化癌 4 例

抗体 は 抗 Survivin polyclonal 抗体 (フナコシ) 1 : 1000 希釈

抗 Aurora B monoclonal 抗体 (BD Bioscience) 1 : 50 希釈

2) 分子病理学的検索 材料

外科的切除と一部剖検で摘出された甲状腺病変のそれぞれ正常部分と腫瘍部分を採取し検討した。

甲状腺腫(過形成) 15 例, 分化型乳頭癌(高分化)58 例, 低分化型癌 10 例, 未分化癌 2 例

組織細胞分画 (Active Motif Nuclear Extract 使用)

甲状腺の生組織の重さを測定し、1 M DTT+ Detergent+Hypotonic Buffer を加え組織をすり潰し、850rpm 10 分遠心し、上清とペレットに分離した。ペレットに Detergent 50 μ l 加え 14000rpm、30sec 遠心し、Cytoplasmic fraction とペレットに分離した。ペレットに 10m M D T T +Protease Inhibiter Cocktail+LysisBuffer AM1 を加え混和し、14000rpm 30sec 遠心し、Nuclear fraction と Pellet fraction に分離した。

それぞれのサンプルに Bio-RAD Protein assay を加え吸光度 (OD595nm) で測定し、たんぱく質濃度 (0.1=2 μ g/ml) を求めた。

【成績, 結論】

1) 免疫染色; 過形成病変においては Survivin は 6 例のうち 2 例に細胞質に陽性を示したが、AuroraB では全て陰性を示した。

高分化乳頭癌では 83 例のうち 23 例が細胞質、核、または両方に陽性 (*p=0.7) を示し、AuroraB も 8 例陽性を示しました。(*p=0.4) 過形成と比べて有意差はみられなかった。これは過形成における症例数が少ないためと考えられる。

低分化癌では 24 例のうち細胞質核または両方に陽性を示すものが 17 例 (**p=0.00012) で、AuroraB も 6 例 (**p=0.04) と、やはり高分化型より高い割合を示している。高分化型癌と比べ有意差を示した。

未分化癌では Survivin, (**p=0.002)、AuroraB (**p=0.003) とすべての症例で陽性を示した。

Survivin, Aurora B とも低分化、未分化型の甲状腺癌で、発現が増加し、悪性度に相関していた。

2) 細胞分画の検討では、計 16 症例を Westernblot 解析した結果、転移巣において Survivin が発現していることがわかった。またその発現パターンは、Z-249 では縦隔、腎臓で細胞質、核、ペレット分画のいずれも、脾臓では細胞質、核分画において発現が認められた。一方 Z-252 では肺のペレット分画において発現が認められた。これまでの Western blot による結果から、甲状腺がんのうち乳頭癌では Survivin の発現はほぼ認められなかった。しかし一方で、転移巣においては細胞質、核、ペレット分画で Survivin の発現が認められた。Survivin は本来、染色体パッセンジャー蛋白質として M 期の核で高発現することが認められているが、転移巣では細胞質やペレット分画でも発現していることから、悪性度の高さや転移との関連が考えられる。