




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 718号	氏名	芝原一樹
審査委員会委員		主査氏名	松浦恵子 
		副査氏名	白下英史 
		副査氏名	北谷正樹 
<p>論文題目</p> <p>Immunohistochemical staining of versican as a potential marker for predicting lymph node metastasis in gastric cancer (胃癌のリンパ節転移を予測する潜在的なマーカーとしてのバーシカンの免疫組織化学染色)</p> <p>論文掲載雑誌名 Pathology・Research and Practice</p> <p>論文要旨</p> <p>【目的】胃癌は本邦においては罹患率、死亡率ともに3番目に高く、リンパ節転移は予後を決する重要な因子の一つである。リンパ節転移のプロセスに上皮間葉転換(EMT)が大きく関与している。バーシカンはEMTに関連し多くの癌で高発現している。そこで胃癌でのバーシカンの発現とリンパ節転移の関係を免疫組織学的に評価することを目的とした。</p> <p>【研究対象及び方法(材料を含む)】24名の胃癌患者から採取したホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いた。そのうち12症例はリンパ節転移を有し、残りの12症例はリンパ節転移がないものである。抗バーシカン抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、①染色面積②最も強い染色の強度③2番目に強い染色の強度④総合評価の4つの指標を用いて評価した。</p> <p>またバーシカンによる細胞遊走能を調べるために胃癌細胞株(MKN74)を用いてスクラッチアッセイを行った。</p> <p>【結果】1. リンパ節転移がある症例はない症例と比較して、免疫組織化学染色の4つの指標の全てにおいて有意に高い数値を示した。 2. リンパ節転移がない症例の中で2例は全くバーシカンが染色されなかった。 3. バーシカン蛋白を添加すると胃癌細胞株MKN74の移動能が増加した。</p> <p>【考察】リンパ節転移の有無は胃癌の手術範囲を決定する主要因であるため、様々な分子を対象とした研究が行われている。リンパ節転移と関連する分子としてSERPINNH1、MiR-6745、IGFBP1、LATS1、eEF2Kなどが報告されているが、バーシカンとリンパ節転移の関係を直接検討した研究は十分でない。本研究はリンパ節転移を伴う組織と伴わない組織を直接比較した初めての研究である。バーシカンの高発現は種々の腫瘍で報告されており、胃癌では腫瘍浸潤との関連や新規予後マーカーとしての可能性が報告されている。本研究でバーシカンはリンパ節転移のマーカーとして有用であることが示唆された。また染色強度の4つの数値による証明は免疫組織化学染色の自動定量化における検出にも寄与できると考える。バーシカン添加により胃癌細胞の移動能が増加したことからバーシカンが胃癌の転移と関連するさらなる裏付けとなった。</p> <p>【結語(まとめ)】胃癌患者の予後予測や治療決定に重要なリンパ節転移の新規マーカーとして、免疫組織化学染色を用いたバーシカンの評価が有用であることを示した</p> <p>本研究は、罹患率、死亡率ともに高い胃癌のリンパ節転移に重要な分子バーシカンを初めて新規マーカーとして診断に有用であることを示した。 このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 ① 課・論	第 718号	氏名	芝原一樹
審査委員会委員	主査氏名	松浦恵子	②
	副査氏名	白下英史	③
	副査氏名	永谷直樹	④
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から緒言、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ versicanは正常組織では発現しているのか、どこに発現しているのか。腫瘍ではどこが陽性か。 ・ versicanは分泌蛋白か。どの細胞が産生しているのか。 ・ versicanを認識するがん細胞側のレセプターは同定されているか。 ・ versicanの発現程度と脈管侵襲との関係はどうだったか。 ・ 腫瘍の分化度や深達度がそろっていないのはなぜか。 ・ EMTが起きているかSnail, Slug, and Twistの変動などは見なかったのか。 ・ 免疫染色で用いた抗体のカタログ番号はなにか。 ・ 染色強度の内因性コントロールとして適切なものはあるか。 ・ 1次抗体の希釈溶液と抗原賦活について記載すべきである。 ・ 同一腫瘍内で同じ染色強度の領域はいくつに分けられるか。 ・ 免疫染色の評価方法をどのようにして決めたのか。 ・ 評価の4つの指標のうち、どれが簡易的で正確か。 ・ 免疫染色の重みづけ6:4の根拠は何か。妥当性はどのように評価したか。 ・ versican陽性部は線維性間質部と一致しているのか。 ・ versicanは潰瘍等の非腫瘍性病変の線維性間質で染まるか。 ・ スクラッチアッセイでのT=0の写真は撮ったか。 ・ versican添加による増殖能への影響は調べたか。 ・ MKN74を用いた理由は何か。用いた細胞株は1種類か。 ・ versican以外でEMTに関係する分子について検討したか。 ・ 添加したversicanの濃度はどのように決定したか。 ・ 血中versicanはELISAなどで検出可能か。 ・ versican以外でEMTに関係する分子について検討したか。 ・ 胃癌診療においてどのように応用できるか。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 芝原一樹

論 文 題 目

Immunohistochemical staining of versican as a potential marker for predicting lymph node metastasis in gastric cancer

(胃癌のリンパ節転移を予測する潜在的なマーカーとしてのバーシカンの免疫組織化学染色)

要 旨

ア. 緒 言 (目的)

- ・胃癌は一般的ながんの一つで、本邦においては罹患数、死亡数ともに 3 番目に高い。
- ・リンパ節転移は胃癌の予後を決定する重要な因子の一つである。
- ・癌転移の重要なメカニズムの一つに上皮間葉転換が存在する。
- ・上皮間葉転換に関与するとされるバーシカンの発現とリンパ節転移の関係を免疫組織学的に評価することを目的とした。

イ. 研究対象及び方法 (材料を含む)

- ・24 の胃癌患者のホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いた。
- ・12 の症例はリンパ節転移を有し、残りの 12 の症例はリンパ節転移がない症例が選択された。
- ・抗バーシカン抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、①染色面積②最も強い染色の強度③2 番目に強い染色の強度④総合評価の 4 つの指標を用いて評価した。

・バーシカンによる細胞の挙動を確認するために胃癌細胞株（MKN74）を用いてスクラッチアッセイを行った。

ウ. 結果

・リンパ節転移を伴う症例は伴わない症例と比較して、免疫組織化学染色の4つの指標の全てにおいて有意に高い数値を示した。

・リンパ節転移がない症例では全く染色されない症例が2例観察された。

・VCAN 蛋白を添加すると胃癌細胞株の移動能増加が観察された。

エ. 考察

・リンパ節転移の有無は胃癌の手術範囲を決定する主な要因であるため、様々な分子を対象とした研究が行われている。

・リンパ節転移と関連する分子として SERPINNH1、MiR-6745、IGFBP1、LATS1、eEF2K などが報告されているが、バーシカンとリンパ節転移の関係を直接検討した研究は十分でない。

・バーシカンの高発現に関しては膀胱癌、食道癌、卵巣癌、乳癌など様々な組織で報告がある。

・胃癌においては腫瘍浸潤との関連や新規予後マーカーとしての可能性が報告されている。

・本研究はリンパ節転移を伴う組織と伴わない組織を直接比較した初めての研究である。

・バーシカンはより侵襲性の高い腫瘍で高発現し、リンパ節転移のマーカーとして機能することが示唆された。

・染色強度の数値による証明は免疫組織化学染色の自動定量化における検出にも寄与できると考える。

・バーシカンによる胃癌細胞の移動能増加は免疫組織化学染色の染色結果と一致していることから、胃癌の転移と関連するさらなる裏付けとなった。

オ. 結語（まとめ）

・胃癌患者の予後予測や治療決定に重要なリンパ節転移の新規マーカーとして、免疫組織化学染色を用いたバーシカンの評価が有用であることを示した。