

氏名 三原 眞理子

授与した学位 博士
専攻分野の名称 歯学

学位授与の番号 博 甲 第 2318 号

学位授与の日付 平成 14 年 3 月 25 日

学位授与の要件 歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題名 Overexpression of CDK2 Is a Prognostic Indicator of Oral Cancer Progression
(CDK2の過剰発現は口腔癌における予後予測因子である)

論文審査委員 教授 永井 教之 教授 菅原 利夫 教授 松村 智弘

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

細胞の増殖は細胞周期により調節されており、正常細胞の細胞周期は種々のサイクリン依存性キナーゼ (Cyclin-dependent protein kinase; CDK) やCyclinにより厳密に制御されている。しかし、癌では CDKあるいはCyclinの遺伝子増幅や過剰発現など、これら制御機構に異常を生じている。

本研究では、口腔癌における G1/S期移行に着目し、これに関連する因子(CDK2, Cyclin A, E)の発現異常について臨床材料を用いて検討を行った。

【材料及び方法】

1. 対象症例

対象は岡山大学歯学部第二口腔外科にて加療した口腔扁平上皮癌103例であり、正常口腔粘膜20例、上皮異形成42例も合わせて検討を行った。

2. 各組織におけるCDK2, Cyclin A, E蛋白の発現

各組織より摘出した組織を用いてパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色ならびに、デキストランポリマー法 (Envisionシステム) を用いた免疫組織化学染色を行った。抗体は、CDK2抗体(Santa Cruz Biotechnology), Cyclin A抗体(Santa Cruz Biotechnology), Cyclin E抗体(Pharminogen)ならびにPCNA抗体(Novocastra)を用いた。評価方法は、その割合が5%以上である症例を陽性とした。また、同時に各組織より抽出した蛋白を用いてWestern blot法を行い、その発現について半定量的な検討を行った。

3. 統計分析

臨床病理学的所見とこれら蛋白の発現に関する検討は、 χ^2 検定およびFisherの直接法にて分析した。予後因子としての分析では、log-rank testにより生存分析を行い、Cox'sハザード回帰分析にて解析した。

【結果及び考察】

1. 臨床材料におけるCDK2, Cyclin A, Eの発現に関する検討

CDK2は正常口腔粘膜、上皮異形成ではほとんど発現を認めなかったが、口腔扁平上皮癌においては64/103例(62.1%)にその発現を認め、口腔扁平上皮癌において有意にその発現の増加を認めた。Cyclin A, Eは正常口腔粘膜、軽度、中等度上皮異形成では、わずかに発現を認めたのみであったが、高度上皮異形成ではそれぞれ、7/14例(50%)、8/14例(57.1%)、口腔扁平上皮癌においては80/103例(77.7%)、64/103例(63.1%)に発現を認め、高度上皮異形成および扁平上皮癌において有意にその発現が増加していた。PCNA陽性率を用いた細胞増殖との検討では、CDK2, Cyclin Aにおいて正の相関が見られた。また、これらの組織より得られた蛋白抽出液を用いたWestern blot法における検討でも、免疫組織化学染色法で得られた結果と同様の結果が得られた。

2. 臨床病理学的因子ならびに予後との関係に関する検討

これらの蛋白の発現と臨床病理組織学的因子との検討においては、CDK2の過剰発現とN分類($p=0.025$)、腫瘍分化度($p=0.032$)および腫瘍浸潤度($p=0.017$)が、Cyclin Aの過剰発現と腫瘍浸潤度($p=0.011$)が関連した。予後との検討に関しては、CDK2の過剰発現により生存率に相違($p=0.017$)を認めた。Cyclin A, Eにおいては、単独ではそれら蛋白の発現と予後との関係に有意な相違は認めなかったが、CDK2とCyclin Aがともに陰性の症例では他の群に比較して高い生存率を示した($p=0.039$)。また、Cox'sハザード回帰分析により、CDK2の過剰発現はT分類、N分類、腫瘍分化度、腫瘍浸潤度に関与する非依存的な予後予測因子であることが分かった。以上の結果より、CDK2の過剰発現は腫瘍の悪性度に関連し、予後予測因子になることが示唆された。

【結論】

口腔癌において、CDK2の過剰発現は細胞増殖および腫瘍の悪性度に関連し、新しい予後予測因子になることが示唆された。

論文審査結果の要旨

細胞周期の進行はG1/S期およびG2/M期の2つの重要なチェックポイントで制御される。CyclinとCyclin dependent kinase (CDK)の複合体がこれらチェックポイントで細胞周期を調節していることが明らかとなってきた。種々の癌では、CDKの遺伝子増幅や過剰発現など、これら調節機構に異常を生じてきている。

本研究では、口腔癌におけるG1/S期移行に着目し、これに関連する因子(CDK2, Cyclin A, E)の発現異常について臨床材料を用いて検討を行った。その結果、CDK2は口腔扁平上皮癌でその過剰発現を認め、一方Cyclin A, Eは高度上皮異形成および口腔扁平上皮癌においてその過剰発現を認めた。これらの蛋白の発現と臨床病理学的因子との検討においては、CDK2の過剰発現とN分類、腫瘍分化度、腫瘍浸潤度と、Cyclin Aの過剰発現と腫瘍浸潤度が関連した。予後との検討に関しては、CDK2の過剰発現により生存率に相違を認めた。Cyclin A, Eにおいては、単独では有意な相違は認めなかったが、CDK2とCyclin Aがともに陰性の症例では他の群に比較して高い生存率を示した。また、Cox'sハザード回帰分析により、CDK2の過剰発現はT分類、N分類、腫瘍分化度、腫瘍浸潤度に非依存的な予後予測因子であると考えられた。以上の結果より、CDK2の過剰発現は腫瘍の悪性度に関連し、予後予測因子になる可能性が考えられた。

このことから、本研究の内容は細胞周期の観点から口腔癌の悪性化を検討するにあたり重要な所見であり、価値のあるものであると考える。

したがって、本申請論文は博士(歯学)の学位授与に値するものであると判定した。