

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域婦人科腫瘍学教育研究分野 氏名 松下 容子
<p>(論文題目)</p> <p>The level of RECQL1 expression is a prognostic factor for epithelial ovarian cancer (上皮性卵巣癌において RECQL1 の発現レベルは予後予測因子となる)</p>	
<p>【目的】</p> <p>DNA 代謝経路の中で重要なヘリカーゼファミリーのひとつが大腸菌 RECQ と相同性を示す RECQ 型である。RECQ 型ヘリカーゼは生命維持に必須なものではないものの、DNA の修復に関わり、ゲノムの安定化に寄与しており、遺伝子のメンテナンズにおいて重要な役割を担っている。</p> <p>ゲノムの安定維持機構の破綻は早期老化や発癌の原因になる。ヒトRECQ型ヘリカーゼには、RECQL1、RECQL2、RECQL3、RECQL4、RECQL5の5種類が存在している。そのうち3つが遺伝的疾患責任因子とされている。RECQL2、RECQL3、RECQL4遺伝子の変異は発癌と早老を特徴とするブルーム症候群、ウェルナー症候群、ロスモンド・トムソン症候群との関連性が報告されている。しかし、RECQL1の機能は未解明のままであるが、その発現程度は肝臓癌・膵臓癌・乳癌などの固形癌において予後と相関していることが報告されている。本研究では上皮性卵巣癌においてRECQL1の発現レベルとその予後との関係を検討した。また、上皮性卵巣癌におけるRECQL1の機能を検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>2006年から2011年までに弘前大学病院産婦人科で治療された上皮性卵巣癌111例(漿液性腺癌45名、粘液性腺癌15名、明細胞腺癌30名、類内膜腺癌17名、特殊型4名)を対象としてRECQL1の発現と臨床病理学的因子との関係性を調べた。</p> <p>RECQL1の発現は免疫組織化学的に染色強度(0=陰性、1=弱陽性、2=中等度陽性、3=強度陽性)と染色範囲(0=0%、1=1-25%、2=26-50%、3=50%以上)より決定したそれぞれのスコアの積を染色スコアとして算出した。対物20倍、3視野を観察し、その平均を染色スコアとした。評価は患者情報を伏せた状況で二人の臨床医で行った(二重盲検法)。当研究では染色スコア9をRecQL1陽性群と定義した。</p> <p>卵巣癌細胞株としてOVCAR3細胞(漿液性腺癌)を37℃、5%CO₂の培養器で細胞を生着させ使用した。RECQL1-siRNA(QIAGEN社)を細胞にトランスフェクションさせ、RECQL1(-) cellを作成し、RECQL1(+) cellをコントロールとしてOVCAR3細胞の増殖能を評価した。OVCAR3細胞のRecQL1の発現抑制をRT-PCR法とウェスタンブロット法にて確認した。</p> <p>アネキシン-Vとヨウ化プロピジウムにてOVCAR3細胞を染色し、フローサイトメトリーにてアポトーシス細胞・死細胞を鑑別した</p> <p>【結果】</p> <p>上皮性卵巣癌の再発群(n=38)、非再発群(n=73)においてRECQL1の発現は有意に高かった(P=0.002)。組織型においてはRecQL1の発現に有意な相関は認めなかった。臨床進行期においてはIII期群で再発群(n=25)は非再発群(n=16)に対してRECQL1の発現は有意に高かった。しかし、後腹膜リンパ節転移には、RECQL1の発現に有意な相関は認めなかった。III/IV期の進行癌(n=46)において完全寛解(CR)に至らなかった症例(n=10)はCRに</p>	

至った症例 (n=36) に比べ RECQL1 の発現は有意に高かった (P=0.031)。また、III/IV 期の進行癌においては RECQL1 陽性群では無増悪生存期間が有意に短かった (P=0.02)。予後を目的変数とした多変量解析でも RECQL1 陽性は独立した予後因子であった (P=0.022)。

RECQL1 陽性群において再発率が有意に高いことから RECQL1 は上皮性卵巣癌の増殖能に関与していると示唆されたため以下の実験を遂行した。

RECQL1(-) 群、RECQL1(+) 群をそれぞれ上記記載条件にて培養したところ 72 時間後には RECQL1(-) 群は RECQL1(+) 群に比べ総細胞数が有意に少なく、死細胞数も有意に多かった。また、コロニー形成も有意に少なかった。また、RECQL1(-) 群では RECQL1(+) 群に比べ、アポトーシス細胞が有意に多かった (P<0.01)。細胞周期の解析でも RECQL1(-) 群では SubG1 phase (Apoptosis) が有意に高値であった (P<0.0005)。RECQL1 はアポトーシスを誘導することにより細胞増殖能を抑制していることが示唆された。

【考察】

RECQL1 の発現レベルは上皮性卵巣癌の予後予測因子と考えられた。また、上皮性卵巣癌において RECQL1 の発現を強めることによりゲノム安定機構を維持し増殖能を維持していることが示唆された。上皮性卵巣癌の治療において RECQL1 の分子標的薬の開発が期待される。

※1 乙の場合、○○領域○○教育研究分野にかえて、所属の○○講座を記入すること。

※2 論文題目が英文の場合は () 内に和訳を付記すること。