

## 学位論文審査の結果の要旨

平成28年5月11日

審査委員	主査	今井田 克己		
	副主査	中村 隆範		
	副主査	荒木 伸一		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
	学籍番号	12D739	氏名	田所明
論文題目	Vimentin regulates the invasiveness and is a poor prognostic marker in non-small cell lung cancer			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="checkbox"/> 合格	・	<input type="checkbox"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)
<p>[要旨]</p> <p>[背景]ビメンチンとは細胞骨格を構成する中間径フィラメントの一種であり、間葉系細胞などに広く発現が見られる。これまでも乳癌や前立腺癌などいくつかの癌腫においてビメンチンとの関係について論じた論文が報告されており、非小細胞肺癌においても手術検体の免疫染色を行いビメンチンの発現は予後に関連があるとする報告や、遠隔転移の頻度に関連があるとする報告が見られる。しかし、なぜビメンチンの発現の有無が非小細胞肺癌の予後に影響するのか、そのメカニズムについてはいまだ不明な部分が多い。そこで我々はビメンチンの発現と予後について非小細胞肺癌の手術検体を用いて確認するとともに、非小細胞肺癌におけるビメンチンの役割について研究した。</p> <p>[方法]ビメンチンの発現と手術後の予後の検討については香川大学医学部附属病院にて1995年から1999年にかけて行われた108例の非小細胞肺癌の手術検体を用い、免疫染色にてビメンチン発現の有無を判定した。10%以上の癌細胞でビメンチンの発現が確認できる症例をビメンチン陽性症例として予後との関連や組織型などの患者背景との関連を検討した。</p> <p>非小細胞肺癌におけるビメンチンの役割として、これまでに遠隔転移との関連も報告されていることから、その機序としてビメンチンによる浸潤能の亢進を考え、siRNA、shRNAを用いて非小細胞肺癌細胞株 (A549、HI1017、RERF-LC-OK) においてビメンチンの発現を抑制し、Matrigel membrane invasion chamber system (MICS)を用いてコントロールとの浸潤能の変化を測定した。また、A549をこのMICSを何度も通過させ、浸潤能の高い細胞を繰り返し選別することによってA549の高浸潤株 (9回通過させたものをA549-9、18回通過させたものをA549-18)を作成し、MICSを通過させていないコントロール (A549-0)との浸潤能やビメンチン発現量の比較を行った。</p>				

[結果]手術検体を用いた検討ではビメンチン陽性群では有意に生存率が低下した( $p=0.038$ )。さらに患者背景を比較すると、腺癌では扁平上皮癌と比べて有意にビメンチンの発現が多く( $p<0.01$ )見られた。多変量解析では病期、組織型、ビメンチンの発現が有意な予後因子として示された。

ビメンチンと浸潤能の関連については、siRNAを用いてビメンチンの発現を抑制したところ、HI1017、RERF-LC-OKではビメンチンを抑制した細胞で有意に浸潤能が低下した。また、HI1017においてはshRNAを用い、こちらでもビメンチンを抑制することで有意な浸潤能の低下を認めた。

一方、A549においては高浸潤株(A549-9、A549-18)を作成したところ、A549-0と比べて有意に浸潤能が高まっているとともに、通過回数に応じてより浸潤能が高まる傾向が見られた。さらにA549-0に比べてA549-9、A549-18では通過回数が多い方がよりビメンチンが多く発現する傾向が見られた。このビメンチンの高発現しているA549-18においてsiRNAを用いてビメンチンを抑制したところ有意な浸潤能の低下が見られた。

[考察]今回の研究では1. ビメンチンが発現していると予後が悪いこと、2. ビメンチンの陽性率は腺癌で扁平上皮癌より高いこと、3. 浸潤能を高めたA549ではビメンチンの発現が高まること、4. ビメンチンを抑制することで浸潤能が低下すること、の4つが示された。特に2-4の項目においては本研究によってはじめて示されたものである。

そしてこれらの結果よりビメンチンは浸潤能を高めることで予後に影響を与えていることが示唆された。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成28年5月10日に行われた。

上記発表についての質問としては

浸潤能を高めた株においてサイトケラチンの発現は変化したかという質問をいただいた。これについては、サイトケラチンの減少を認めたとの返答をした。

また、ビメンチンの抑制について扁平上皮癌の細胞株を用いた実験がないという点について質問をいただいた。これについては、当初予定していた扁平上皮癌の細胞株ではビメンチンの発現が確認できなかったため使用しなかったとの返答をした。

他にも予後の検討において腺癌と扁平上皮癌のステージがそろえてあるのか、ビメンチン陽性の基準を10%とした根拠、今後の研究の方向性などについて質問があり、適切に返答した。

本研究はビメンチンと浸潤能、予後との関連について指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は肺癌の悪性度を考える上で重要であり学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士(医学)の学位論文に十分値するものと判定した。

掲 載 誌 名	Anticancer Research	第 36 卷, 第 5 号	
(公表予定) 掲 載 年 月	2016年4月	出版社(等)名	The International Institute of Anticancer Research

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。