

# 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論 文 提 出 者	村 木 智 則
論 文 審 査 委 員	(主 査) 朝日大学歯学部教授 式守 道夫 (副 査) 朝日大学歯学部教授 田沼 順一 (副 査) 朝日大学歯学部教授 近藤 信夫
論 文 題 目	ヒト口腔前癌病変における hnRNP K 発現の解析
(学位論文審査の要旨)  <p>2005 年の WHO の組織学的分類において、口腔粘膜にみられる白色病変の 1 つである白板症は、上皮過形成、上皮異形成、上皮内癌および扁平上皮癌に分類されている。中でも上皮異形成は境界病変と呼ばれ、軽度、中等度および高度異形成に細分類されており、その診断基準の項目も挙げられているが客観性には乏しい。そのため、上皮異形成は病理組織学的診断における客観的診断基準を確立するための新たな診断マーカーが必要とされてきた。これまでに田沼ら (1998 年) は 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) を用いたラット発癌モデル実験によって舌癌発生に関連する 5 つの QTL と 7 つの Suggestive な領域を見出した。その中から、ラット第 17 番染色体に含まれる癌関連遺伝子の 1 つで、mRNA と結合して核外へ輸送、転写、翻訳および修飾に関与する heterogeneous nuclear ribonucleic protein K (hnRNP K) に着目した。さらに、坂野ら (2012 年) は hnRNP K が 4NQO ラットの舌発癌実験で、前癌病変の発症にも関係することを報告した。そこで今回、hnRNP K の発現動態がヒトの前癌病変でも関連することを、正常粘膜上皮、上皮過形成、上皮異形成および扁平上皮癌で比較検討し、さらに hnRNP K が前癌病変における診断マーカーとなり得る可能性を検討した。</p> <p>対象は、朝日大学附属病院口腔外科で臨床診断後に生体組織検査あるいは外科的切除され、2005 年 WHO の上皮異形成診断基準に従い病理診断された扁平上皮癌 50 症例、上皮異形成 50 症例、上皮過形成 20 症例を用いた。すべての標本は通法に従い 10%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋切片を用い、免疫組織化学的検索ならびにリアルタイム PCR 法による検索を行った。免疫組織化学的検索は CK10/13, CK17, Ki-67, p53 および hnRNP K に対する各 1 次抗体を用い、hnRNP K 免疫染色の結果については画像解析ソフト Win R00F を用いてその発現領域と強度を解析した。リアルタイム PCR による hnRNP K と Tp53 の発現量解析はパラフィン切片から total RNA を抽出し、cDNA に変換後、リアルタイム PCR 装置の <math>\Delta \Delta Ct</math> 法により行った。</p>	

免疫組織学的検索では、hnRNP K タンパクは細胞質の発現では扁平上皮癌<上皮異形成<上皮過形成の順に高く、逆に、核では上皮過形成<上皮異形成<扁平上皮癌の順に高い発現を認めた。また、p53 タンパクは上皮過形成と軽度上皮異形成で陰性を示し、高度上皮異形成や扁平上皮癌では陽性を認めた。これら hnRNP K と p53 タンパクの核における発現は上皮過形成から扁平上皮癌にかけて、強い発現の相関を示した。一方、リアルタイム PCR 解析では、正常の上皮組織で発現した hnRNP K mRNA 発現量を基準に、各疾患の相対的発現量を比較し、上皮過形成 (1.6) , 上皮異形成 (4.3) , 扁平上皮癌 (13.9) の順に高い発現量を示した。さらに Tp53 mRNA の発現量は上皮過形成 (2.1) , 上皮異形成 (91.8) , 扁平上皮癌 (1709.6) の順に高い発現量を示した。このことから、hnRNP K および Tp53 mRNA の発現量は共に上皮異形成で有意に高い発現量を示し、扁平上皮癌では高値を示した。

hnRNP K タンパクは比較的 DNA 損傷が少ない上皮過形成や軽度上皮異形成で細胞質への集積を認め、DNA 損傷が多い高度上皮異形成や扁平上皮癌で細胞核への集積を認めた。また、hnRNP K mRNA は上皮過形成、上皮異形成そして扁平上皮癌の順に高値を示した。これに p53 タンパクや Tp53 mRNA 発現結果を合わせて考えると、hnRNP K は癌抑制遺伝子の p53 と共存的に働いていることを裏付けていると考える。すなわち、hnRNP K mRNA 発現量が高くなるとともに hnRNP K タンパクの細胞質から細胞核へと発現が移行、ならびに p53 が高発現となることから盛んに DNA 修復が行われていることが示唆された。このことから、既知の p53 の発現量に関連して、hnRNP K タンパクと hnRNP K mRNA の発現を比較することは DNA 損傷の生じた境界病変として客観的に上皮異形成を検出することができ、ひいては口腔前癌病変や口腔癌患者の早期治療方針決定するための有益な情報をもたらすことが出来ると考えられる。

hnRNP K タンパクと hnRNP K mRNA 発現の程度はヒト口腔前癌病変ときわめて強い相関がみられた。特に hnRNP K 抗体は p53 抗体に比較して上皮異形成において有意にタンパクの高発現がみられ、hnRNP K タンパクは異型性の少ない上皮過形成や軽度上皮異形成では主に細胞質や細胞核に偏在し、一方、異型性の強い高度上皮異形成や扁平上皮癌では細胞核にその局在が移行する。以上のことから hnRNP K は前癌病変の診断マーカーとして有用であることが示唆された。

審査委員は、本論文が口腔外科臨床に寄与することを高く評価し、学位（歯学）に値するものと判定した。