

論文内容要旨

論文題目

Expression of acetylated and methylated histone H3 in colorectal cancer

(大腸直腸癌におけるアセチル化、メチル化ヒストンH3の発現について)

責任分野：病態病理学

講座

氏名：橋本敏夫

【内容要旨】(1,200字以内)

<目的>大腸癌手術症例を対象として免疫組織学的にヒストン修飾を検討して、その臨床病理学的因子、予後を検討した。

<対象>2000年11月から2005年12月に公立置賜総合病院にて手術施行された大腸癌症例81例を対象とした。

<方法>ホルマリン固定パラフィン包埋切片作成して、CSAシステムを使用して免疫組織染色を施行した。1次抗体に upstate 社の抗 acetyl-histoneH3 抗体(H3Ac)、抗 dimethyl-histoneH3 lysine4 抗体(H3K4)を用いた。免疫染色の評価は染色強度と染色細胞数を評価した。症例ごとに腫瘍浅部、深部を強拡大(x400)にて5枚ずつ計10枚撮影して記録した。染色強度は Grade 1, Grade 2, Grade 3 の3段階に分類した。

また染色細胞数は photoshop6.0 を用いて画像処理を行い、NIH image を用いて陽性細胞数を計算した。各症例ごとに陽性細胞数の平均値を求め、average、standard deviation(S.D.)を求めた。Grade 1 <AV-S.D., AV-S.D. ≤ Grade 2 ≤ AV+S.D., Grade 3 >AV+S.D. の3段階に分類した。

<結果>H3Ac の染色強度と陽性細胞数は病期分類、組織型、深達度との間に有意差を認めなかった。H3K4 の陽性細胞数は病期分類、組織型、深達度との間に有意差を認めなかったが、H3K4 の染色強度が強いと深達度、病期分類が有意に悪かった。

H3K4 の染色強度と陽性細胞数は $R=0.613$, $P<0.001$ の強い相関関係を認めた。また、H3Ac の染色強度と陽性細胞数は $R=0.739$, $P<0.0001$ の強い相関関係を認めた。H3Ac と H3K4 の染色強度は $R=0.499$, $P<0.0001$ の強い相関関係を認めた。H3Ac と H3K4 の陽性細胞数は $R=0.575$, $P<0.001$ の強い相関関係を認めた。

Over all survival :stage I ,n=13,1.000 : stage II, n=23,0.767 : stage IIIa, n=15, 0.323 : stage IIIb ,n=8, 0.146 : stage IV, n=21, 0.273 であった。Over all survival :H3Ac 染色強度 : Grade 1, n=26, 0.768 : Grade 2, n=32, 0.556 : Grade 3, n=22, 0.178 と染色強度が増加するに伴い、有意($P=0.001$ log rank test)に over all survival の悪化を認めた。

<結語>大腸癌手術症例を対象として免疫組織学的に H3Ac と H3K4 発現を検討した所、H3Ac と H3K4 の染色強度と陽性細胞数の間に強い相関関係を認めた。また H3Ac 染色強度の強い症例は有意に予後が悪いと判断された。

平成 19 年 2 月 5 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 橋本 敏夫

論文題目： Expression of acetylated and methylated histone H3 in colorectal cancer.
(大腸直腸癌におけるアセチル化、メチル化ヒストン H3 の
発現について)

審査委員： 主審査委員

一瀬 白帝 (印)

副審査委員

河田 進男 (印)

副審査委員

富田 喜寿 (印)

審査終了日： 平成 19 年 1 月 18 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

がん化の過程には、多段階に進行する遺伝子変異の蓄積の他にエピジェネティックな変化が強く関与していることが知られている。中でも DNA のメチル化に加えてヒストンのメチル化やアセチル化等が遺伝子発現に重要な影響を与えることが明らかになり、各種のがんでの挙動が注目を浴びている。

今回橋本君は、大腸・直腸癌の組織においてヒストン H3 のアセチル化とメチル化の程度を特異的な抗体を用いて測定して、それらと累積生存率を含む臨床病理学的な所見との関係を明らかにするための検討を実施した。

アセチル化ヒストン H3 に特異的な抗体 H3AC と Lysine-4 がメチル化されたヒストン H3 に特異的な抗体 H3K4 を用いて大腸癌 81 症例から採取した標本の免疫組織染色を行ない、染色強度と染色陽性細胞数の評価をしたところ、両指標とも H3AC では大腸癌の組織型、深達度、病期分類との間に有意な相関が認められなかった。一方、H3K4 の陽性細胞数は前述した 3 項目との相関はなかったが、染色強度は大腸癌の深達度と病期分類との間に有意な相関が認められた。累積生存率は、H3AC と H3K4 の染色強度と相関するが、陽性細胞数との相関は認められていない。なお、H3AC の陽性細胞数と染色強度、H3K4 のそれら、H3AC と H3K4 の陽性細胞数同士、H3AC と H3K4 の染色強度同士の間には何れも強い相関があったという。

以上のように橋本君は、大腸癌におけるヒストン H3 のアセチル化及びメチル化と臨床病理学的所見の相関を検討して、両者の程度（染色強度）が高い程、予後が悪いことを明らかにした。しかし、2 つの特異的な抗体による陽性細胞数と染色強度に強い相関があるにも拘らず、両者で臨床病理学的所見との相関が一致しないことの原因が考察されていないこと、染色強度のクレード化に客観性と再現性を確保する努力がなされていないこと、論文の書き方が極めて不適切であることなどが具体的に指摘され、強く改善を求められた。本審査委員会の結果報告のメ切り日までに一定の改善がなされたが、依然として論文として大きな欠陥が残されたままであった。

従って本審査委員会は、橋本君の研究内容自体は評価するものの、本論文は国会図書館に提出するレベルに到達していないと判定し、再修正を要求した。その後最終試験前日までに本論文の有意な改善が見られたので、更に改善することを条件に学位（医学）を授与するに値すると判定した。

(1,200 字以内)