

Title	Copy number increase of ACTN4 is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma
Author(s)	渡部, 幸央
Journal	歯科学報, 115(2): 162-163
URL	http://hdl.handle.net/10130/3576
Right	

氏名(本籍)	わた べ ゆき お 渡 部 幸 央 (千葉県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2036 号(甲第 1270 号)
学位授与の日付	平成26年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Copy number increase of <i>ACTN4</i> is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma doi : 10.1002/cam4.214
掲載雑誌名	Cancer Medicine 第3巻 3号 613-622頁 2014年6月
論文審査委員	(主査) 片倉 朗教授 (副査) 柴原 孝彦教授 川口 充教授 東 俊文教授 橋本 貞充准教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

唾液腺癌は頭頸部癌の約5%を占めるとされる稀な腫瘍である。また、その組織型は多彩であることから唾液腺癌の治療戦略の決定や制御には難渋することが多い。唾液腺癌の予後因子としては臨床病期、年齢、発生部位、組織学的悪性度などがあり、特に組織学的悪性度はリンパ節転移のリスクを判定することができ、治療戦略の決定に有用とされている。唾液腺癌において組織学的悪性度や予後と相関するバイオマーカーを同定することができれば、症例に応じた最適な治療戦略を提供することが可能となる。

本研究では細胞運動や突起形成に必須なアクチン束状化タンパク質であるアクチニン-4(遺伝子名:*ACTN4*)に焦点をあてた。近年、*ACTN4*の遺伝子増幅は種々の癌で予後を予測することができると報告されてきている。そこで、唾液腺癌における予後予測バイオマーカーとしてのアクチニン-4の有用性を fluorescence *in situ* hybridization法(FISH法)、免疫組織化学染色を用いて検討した。

2. 研究方法

対象は1997年から2011年までに国立がん研究センター中央病院頭頸部腫瘍科で手術療法を行った唾液腺癌患者58例とした。初めに、これらのホルマリン固定パラフィン包埋組織から組織マイクロアレイを作製した。そして、FISH法を用いて*ACTN4*コピー数を解析した。また、免疫組織化学染色法を行い唾液腺癌におけるアクチニン-4のタンパク質発現も評価し、コピー数およびタンパク質発現と臨床病理学的因子との関連を統計学的に評価した。

3. 研究成績および結論

FISH法により58例中14例(24.1%)に*ACTN4*コピー数増加を認めた。*ACTN4*コピー数増加群は非増加群と比べ組織学的高悪性度群($P=0.0465$)と脈管浸潤陽性群($P=0.0326$)で多かった。一方、免疫組織化学染色法によりアクチニン-4タンパク質高発現群は39例(67.2%)に認めたが、タンパク質発現と臨床病理学的因子との間に有意な相関関係は認められなかった。続いてコピー数とタンパク質発現の関連を評価した。腺様嚢胞癌において21例中18例(85.7%)にアクチニン-4のタンパク質発現を認めたが、コピー数増加は1例(4.2%)のみであったため、腺様嚢胞癌を除いた唾液腺癌37例でコピー数とタンパク質発現の関連を評価した。タンパ

ク質発現を strong expression, moderate expression, negative staining と 3 群に分類し, それぞれの平均 *ACTN4* コピー数を測定したところ strong expression で最も高い平均コピー数を示し, moderate expression, negative staining の順に減少した。Strong expression と moderate expression, strong expression と negative staining との間に有意差が認められた。生存解析では全生存期間で *ACTN4* コピー数増加群は非増加群と比較して有意に短かった ($P=0.0005$, log-rank test)。全生存期間における Cox 比例ハザードモデルによる単変量解析で組織学的悪性度, 脈管浸潤陽性そして *ACTN4* コピー数増加が危険因子として選択され, 多変量解析では脈管浸潤陽性(ハザード比, 7.46; $P=0.0030$)と *ACTN4* コピー数増加(ハザード比, 3.23; $P=0.0358$)が独立した予後予測因子であった。同様に, 腺様嚢胞癌を除く唾液腺癌で全生存期間を解析したところ, *ACTN4* コピー数増加群は非増加群と比較して有意に短く ($P=0.0112$, log-rank test), 多変量解析でも脈管浸潤陽性(ハザード比, 9.00; $P=0.0026$)と *ACTN4* コピー数増加(ハザード比, 4.35; $P=0.0187$)が独立した予後予測因子であった。

本研究により, *ACTN4* コピー数増加は唾液腺癌における組織学的悪性度と相関する予後予測バイオマーカーと成り得ることが示唆された。FISH 法による *ACTN4* コピー数解析は唾液腺癌の治療方針の決定の一助となることが考えられる。

論文審査の要旨

唾液腺がんは希少がんでありながら組織型が多彩であり, 悪性化形質も異なるため, 予後予測は一般的に困難である。本論文では, がんの浸潤・転移に関与するアクチニン-4 (遺伝子名: *ACTN4*)に着目し, 唾液腺がんの組織検体から組織マイクロアレイを作成し, FISH 法, 免疫組織化学染色を用いて唾液腺がん組織における *ACTN4* コピー数とアクチニン-4 の発現を評価した。その結果, *ACTN4* のコピー数増加が唾液腺がん患者の予後に影響を与えることを解明し, バイオマーカーとしての有用性が証明された。唾液腺がん患者の組織検体を用いて *ACTN4* のコピー数を評価することで患者ごとに悪性度を把握することができ, 治療法を決定する一助になることが示された。

本審査委員会では 1) 組織マイクロアレイのコアを採取する選択基準, 2) *ACTN4* コピー数が増加している患者に対する治療法, 3) *ACTN4* のコピー数では予後に差が認められたが, アクチニン-4 のタンパク質発現では予後に差が認められなかった理由, 4) タンパク質発現と DNA コピー数の相関を解析する際に腺様嚢胞癌患者を除外した理由, などが質疑としてあげられた。これらに対して 1) 診断の根拠となる検体を代表すると考えられる部位を選択し, 確実に腫瘍細胞が回収出来る部位から採取した, 2) 術後の放射線療法が考えられ, 将来的には分子標的治療薬の可能性もある, 3) タンパク質発現の評価方法が定性評価であること, 症例数が少ないことが統計学的に有意な差が得られなかった原因と考えられる, 4) 腺様嚢胞癌の 85.7% にアクチニン-4 のタンパク質の過剰発現を認める一方, コピー数増加は 1 例のみであり, その発生由来を考慮し, 解析から除外した, との回答があった。3), 4) は考察に追記を行い, その他, 本文上の表現, 略語の使用, 図について改善の指摘があり修正がなされた。

以上の結果から本研究で得られた結果は今後の歯学(口腔外科学)の進歩, 発展に寄与するところが大きく, 学位授与に値するものと判定した。