

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 636 号	氏名	川村 和弘
審査委員会委員		主査氏名	久保田 敏昭 
		副査氏名	鈴木 正志 
		副査氏名	西田 欣広 
<p>論文題目 Activation of the RAS/ERK signaling pathway by RASAL1 and its clinical significance in squamous cell carcinomas of the tongue (舌扁平上皮癌における RASAL1 による RAS/ERK シグナル伝達経路の活性化およびその臨床的重要性の検討)</p> <p>論文掲載雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology</p> <p>論文要旨 緒言：RAS の活性化、非活性化に関連する RAS-GTPase activating proteins (RAS-GAPs) は他の臓器の癌において関連性が報告されているが、口腔癌においては報告例が少なく臨床病理学的意義について考察された研究はほとんどない。本研究では舌扁平上皮癌（舌 SCC）において、RAS の活性化および関連する RAS-GAPs について研究し、舌 SCC における RAS シグナル伝達の臨床病理学的役割について検討することが目的である。</p> <p>研究対象及び方法：大分大学歯科口腔外科で 2002 年から 2015 年までに切除した舌 SCC 45 例を対象とした。そのうち 20 例については K-RAS、H-RAS、N-RAS の変異について PCR-SSCP を用いて分析した。また RAS-GAPs のうち、RASAL1、NF1、DAB2IP をコードする mRNA の発現について腫瘍と健常部との相対レベルを RT-PCR を用いて分析した。また全症例において RAS シグナル伝達経路の下流にあるリン酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2) について免疫組織学的染色を行った。最後に RAS-GAPs および、臨床病理学的因子と p-ERK1/2 との関連性について検討した。</p> <p>結果：20 例の舌 SCC において K-RAS、H-RAS、N-RAS 遺伝子に変異は検出されなかった。RAS-GAPs における mRNA のレベルについては、RASAL1 は 80%、NF1 は 31.6%、DAB2IP は 25% の症例において、それぞれ downregulation が認められた。免疫染色では p-ERK1/2 は 73.3% において発現が認められた。RASAL1 の downregulation と p-ERK1/2 発現との間には統計学的に有意差を認めた (p=0.014)。さらに、p-ERK1/2 と臨床病理学的因子との関連については腫瘍の大きさとの間に有意差を認めた。</p> <p>考察：舌 SCC において RAS-GAPs のうち RASAL1 の downregulation の割合が高かったこと、および p-ERK1/2 の発現との相関性が明らかになったことから、RASAL1 の downregulation により RAS が活性化した状態となり、その結果 RAS/ERK シグナル伝達経路が制御されていることが示唆された。また、p-ERK1/2 は初期段階の腫瘍よりも進行した腫瘍でより発現すると考えられた。</p> <p>結語：本研究において RASAL1 の downregulation によって RAS/ERK シグナル伝達経路の活性化が生じ、舌 SCC の進行に関与していることが示唆された。</p> <p>本研究は RASAL1 の downregulation により RAS が活性化した状態となり、その結果 RAS/ERK シグナル伝達経路の活性化が生じて舌 SCC の進行に関与していることを、舌癌で初めて証明したものである。今後の今後の研究の発展も期待されるので、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
学力の確認

審査区分 課・論	第 636 号	氏 名	川村 和弘
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	久保田 敏昭	
	副査氏名	鈴木 正志	
	副査氏名	西田 欣広	

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査員から、研究の目的、方法、結果、考案について次の質問を受けた。

1. 対象患者標本は2002年から2015年に治療しており、材料として包埋切片を使用しているので、Ethical approvalを具体的にどのようにして取得したのか。
2. mRNA of RAS-GAPsには14種の遺伝子があるが、そのうちRASAL1, NGI, DAB2IP の3つだけを調べた理由は、多くのRAS-GAPsの中でこれまで癌との関連が報告されているのはどれで、何の癌との関連が言われているのか。
3. Proportional score 及び intensity score の具体的な方法は、画像解析ソフトなどは使用したのか。
4. RASの変異やRAS-GAPsのmRNAについては20例を対象としているのに、他のERK1/2については45例を対象としているのは何故か。
5. Discussionには他の癌で関連が記載されているが、PITX1が関連するメカニズムはどのように想定されているのか。
6. RAS/ERKシグナル伝達経路は正常な細胞ではどのような働きをしているのか。
7. RAS-GAPsについては遺伝子レベルでの解析なのに、ERK1/2についてはタンパクレベルの解析になっているのは何故か。
8. RAS-GAPsについては腫瘍領域の正常領域との比較値であるのに、ERK1/2については腫瘍領域自体の値を用いて、これらの関連を検討しているのは何故か。
9. ERK1/2の免疫染色の (+) と (-) をスコア4で区切った根拠は何か。
10. RASAL1もERK1/2も、その発現程度を数値化できるのであるから、それ自体を用いて関連性の検討ができるのではないか。
11. RASそのものを測定することはできないのか。
12. 研究結果を実臨床に活かすには、RAS-GAPsやERK1/2の発現の有無で予後をはじめとした臨床指標を検討すべきではないか。
13. RAS-GAPsで測定した3項目のうち2項目は発現が増加、RASAL1は抑制されているがどのように解釈するか。
14. RASの活性化にRAS-GAPsの抑制を観察しているがRAS-GEFsについて確認しなくてもよいのか。
15. 免疫組織染色は正常組織もコントロールとして染色しなくてよいのか。
16. pERK1/2と臨床所見との関係ではT分類と有意差があるが他のfactorとの相関がみられないのは何故か？
17. RASからERK1/2までシグナル伝達の途中のfactorによる影響についてはどのように考えるか？
18. Figure 3 のR2値の齟齬について

これらの質問に申請者は概ね納得のいく返答をすることができた。審査委員の合議の結果、学位取得有資格者と認定した。

学 位 論 文 要 旨

氏名 川村 和弘

論 文 題 目

.....Activation of the RAS/ERK signaling pathway by RASAL1 and its clinical significance in squamous cell carcinomas of the tongue.....

.....(舌扁平上皮癌における RASAL1 による RAS/ERK シグナル伝達経路の活性化およびその臨床的重要性の検討).....

要 旨

緒言: RAS の活性化、非活性化に関連する RAS-GTPase activating proteins (RAS-GAPs)は他の臓器の癌において関連性が報告されているが、口腔癌においては報告例が少なく臨床病理学的意義について考察された研究はほとんどない。本研究では舌扁平上皮癌 (舌 SCC) において、RAS の活性化および関連する RAS-GAPs について研究し、舌 SCC における RAS シグナル伝達の臨床病理学的役割について検討することが目的である。

研究対象及び方法: 大分大学歯科口腔外科で 2002 年から 2015 年までに切除した舌 SCC 45 例を対象とした。そのうち 20 例については K-RAS、H-RAS、N-RAS の変異について PCR-SSCP を用いて分析した。また RAS-GAPs のうち、RASAL1、NF1、DAB2IP をコードする mRNA の発現について腫瘍と健常部との相対レベルを RT-PCR を用いて分析した。また全症例において RAS シグナル伝達経路の下流にあるリン酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2) について免疫組織学的染色を行った。最後に RAS-GAPs およ

び、臨床病理学的因子と p-ERK1/2 との関連性について検討した。

結果: 20 例の舌 SCC において K-RAS、H-RAS、N-RAS 遺伝子に変異は検出されなかった。RAS-GAPs における mRNA のレベルについては、RASAL1 は 80%、NF1 は 31.6%、DAB2IP は 25% の症例においてそれぞれ downregulation が認められた。免疫染色では p-ERK1/2 は 73.3% において発現が認められた。RASAL1 の downregulation と p-ERK1/2 発現との間には統計学的に有意差を認めた ($p=0.014$)。さらに、p-ERK1/2 と臨床病理学的因子との関連については腫瘍の大きさとの間に有意差を認めた。

考察: 舌 SCC において RAS-GAPs のうち RASAL1 の downregulation の割合が高かったこと、および p-ERK1/2 の発現との相関性が明らかになったことから、RASAL1 の downregulation により RAS が活性化した状態となり、その結果 RAS/ERK シグナル伝達経路が制御されていることが示唆された。また、p-ERK1/2 は初期段階の腫瘍よりも進行した腫瘍でより発現すると考えられた。

結語: 本研究において RASAL1 の downregulation によって RAS/ERK シグナル伝達経路の活性化が生じ、舌 SCC の進行に関与していることが示唆された。