

1-28 子宮頸部腺癌におけるヒトパピローマウイルス感染と p16^{INK4a} 蛋白質過剰発現に関する解析国立埼玉病院¹, 慶應大²石川光也¹, 藤井多久磨², 林 茂徳², 小野見子², 福地 剛², 久布白兼行², 塚崎克己², 吉村泰典², 野澤志朗²

【目的】子宮頸部扁平上皮癌の発癌機構にはヒトパピローマウイルス (HPV) 感染に伴う Rb 蛋白質の機能失活が関与し, その結果として細胞周期調節蛋白質のひとつである p16^{INK4a} 蛋白質 (p16^{INK4a}) の過剰発現が極めて高率に認められる。しかしながら, 頸部腺癌における HPV 感染の果す役割は不明である。そこで今回, 子宮頸部腺癌における HPV 感染を解析するとともに p16^{INK4a} の過剰発現を指標とした Rb 蛋白質の機能失活が発癌機構に関与しているか否かを検討した。【方法】1. インフォームドコンセントを得た上で頸部腺癌49例の手術検体パラフィン包埋切片よりゲノム DNA を抽出後, E6E7領域を標的とした HPV16型, 18型特異的プライマーを用いて PCR 法を施行した。2.HPV 特異的プローブとビオチン標識 tyramide を利用した超高感度 in situ hybridization (ISH) 法を行い HPV 感染の有無を検討した。3.p16^{INK4a} の過剰発現の有無を抗 p16^{INK4a} モノクローナル抗体 (clone E6H4.MTM 社) を用いて免疫組織化学的に検討した。【成績】1.PCR 法の結果, 頸部腺癌49例のうち32例 (65%) で HPV16または HPV18型の感染を認めた。2.ISH 法では43例中11例 (26%) で HPV16または HPV18型 DNA がシグナルとして検出された。3.PCR 法にて HPV16または HPV18型の感染を認めた頸部腺癌のうち30例 (93%) は p16^{INK4a} 過剰発現を示した。【結論】頸部腺癌では扁平上皮癌ほど HPV の検出率は高くないが, 頸部腺癌の発癌機構においても扁平上皮癌同様に, HPV 感染に伴う Rb 蛋白質の不活化が重要な経路である可能性が示唆された。

1-29 子宮頸部小細胞癌におけるヒトパピローマウイルス感染と p16INK4a 蛋白質過剰発現に関する解析

国立栃木病院¹, 慶應大²舩本暢生¹, 藤井多久磨², 小野見子², 林 茂徳², 岩田 卓², 福地 剛², 進 伸幸², 久布白兼行², 塚崎克己², 吉村泰典², 野澤志朗²

【目的】子宮頸部扁平上皮癌の発癌機構にはヒトパピローマウイルス (HPV) 感染に伴う Rb 蛋白質の機能失活が関与し, その結果として細胞周期調節蛋白質のひとつである p16INK4a 蛋白質 (p16INK4a) の過剰発現が極めて高率に認められる。しかしながら, 子宮頸部小細胞癌における HPV 感染の果す役割は不明である。そこで今回子宮頸部小細胞癌における HPV 感染を解析するとともに p16INK4a の過剰発現を指標とした Rb 蛋白質の機能失活が発癌機構に関与しているか否かを検討した。【方法】子宮頸部小細胞癌10症例を対象とした。1. パラフィン包埋切片よりゲノム DNA を抽出後, L1領域を標的とした L1C1/L1C2プライマーを用いて PCR 法を施行し, シークエンス解析により HPV の型判定を行った。2.HPV 特異的プローブとビオチン標識 tyramide を利用した超高感度 in situ hybridization (ISH) 法を行い, HPV の型判定・組織内局在を検討した。3.p16INK4a の過剰発現の有無を抗 p16INK4a モノクローナル抗体 (clone E6H4.MTM 社) を用いて免疫組織化学的に検討した。【成績】1.10症例の全てにおいて HPV の DNA が検出され, シークエンス解析では9症例が HPV18型, 1症例が HPV16型であった。2.ISH 法では6例が陽性で5例が点状シグナルを示す組み込み型の HPV18型, 1例が点状・び慢性の混合シグナルを示す組み込み型及び非組み込み型の HPV16型であった。3.p16INK4a は全例で過剰発現しており, うち9症例で強発現が認められた。【結論】子宮頸部小細胞癌では組み込み型の存在形式を示す HPV18型の DNA が高頻度に検出され, p16INK4a の過剰発現が全例に認められた。従って子宮頸部小細胞癌の発癌機構は扁平上皮癌と同様に HPV 感染による Rb 蛋白質の機能失活が関与していることが示唆された。

1-30 DNA ウイルス (SV40 T 抗原) 誘導上皮性腫瘍発生マウスを用いた p53過剰発現によるアポトーシス誘導能の検討

富山医科薬科大学医学部

中村隆文, 佐伯 愛, 内 尚子, 日高隆雄, 堀 慎一, 斎藤 滋

【目的】多くの癌では p53遺伝子に変異している。ウイルス蛋白により p53機能を欠損した腫瘍に対して, p53遺伝子治療が可能かどうかトランスジェニックマウス (Tg マウス) を用いて検討した。【方法】DNA ウイルスである HPV の E6と E7蛋白と同様に SV40の野生型 T 抗原は, 癌抑制遺伝子産物である p53と pRB の機能を同時に抑制する。αA-crystallin promoter を用いて水晶体上皮特異的に野生型 SV40T 抗原を発現する αT3 Tg マウスを作製した。またヒト野生型 p53を水晶体上皮に過剰発現する W1 Tg マウスも作製した。αT3マウスと W1マウスとの交配実験を行い αT3/W1マウスを作製し, αT3/W1マウス腫瘍の増殖を観察した。【成績】αT3マウスは HPV が子宮頸癌を発症する経過と病理学的に酷似した発生過程を示し, マウスの胎生期から水晶体上皮に異形成から上皮内癌を発生して生後数ヶ月で微小浸潤癌を経て周囲臓器に浸潤する扁平上皮癌を発生した。また W1マウスは野生型ヒト p53が水晶体に過剰発現するため, 正常水晶体細胞にアポトーシスを誘導して, ほとんどの水晶体細胞が死滅した。αT3/W1マウスはヒト p53の過剰発現が αT3水晶体上皮性腫瘍にアポトーシスを誘導してその増殖を抑制した。しかしながら正常細胞が死滅するほど p53遺伝子を過剰発現させても, 治療抵抗性腫瘍が数ヶ月で再増殖してくるため遺伝子治療のみで腫瘍発生を完全に抑制することは困難であった。【結論】p53遺伝子の変異のない HPV の E6 癌蛋白によって p53蛋白機能が抑制されている子宮頸癌でも p53の遺伝子過剰発現の効果がある程度は期待できるが p53遺伝子治療は完全ではなく, 癌化学療法や免疫療法などとの併用を含めた集学的治療が必要と考えられた。