3-16 子宮体癌組織型と p53癌抑制遺伝子変異の機能的 variation との関連

北海道大

山本 律, 藤堂幸治, 渡利英道, 水上尚典, 櫻木範明

【目的】 DNA 結合ドメインの missense 変異は dominant negative 作用と悪性形質に関連する gain-of-function をしばしば示す。本研究では体癌組織型と p53癌抑制遺伝子変異との関連を、p53変異の機能的分類に基づいて検討する。【方法】 Informed Consent を得て摘出子宮から採取した子宮体癌組織58検体より RNA を抽出し yeast functional assay を行い、p53蛋白変異の有無をスクリーニングした。組織型の内訳は類内膜腺癌が45例、非類内膜腺癌が13例である。background レベルを超える赤コロニーを生じたクローンは正常 p53機能を失っており p53癌抑制遺伝子の変異あるいは喪失があると見なし、シークエンスにより p53変異を確認すると共に、正常 p53を含むプラスミドベクターとともに yeast functional assay を行い p53蛋白の dominant negative 作用の有無を確認した。p53癌抑制遺伝子の機能的状態を正常 (N), recessive (R), dominant negative (DN) に分けて組織型、進行期と比較検討した。【成績】 類内膜腺癌の p53は N:33例, R:8例, DN:4例であり、p53変異陽性率は26.7%であった。非類内膜腺癌の p53は N:4例, R:1例, DN:8例であり、p53変異陽性率は69.2%であった ($p=0.0002$)。FIGO 進行期の比較では、I, II 期で N:26例, R:6例, DN:8例であり、p53変異陽性率は35.0%、III, IV 期で N:11例, R:3例, DN:4例であり、p53変異陽性率は38.9%であり、両者に差はなかった。p53変異の中で DN が占める割合は類内膜腺癌の33.3%に対して非類内膜腺癌で88.9%と高率に認められた ($p=0.015$)。【結論】 臨床的に予後不良である非類内膜型子宮体癌の発生/進展に dominant negative p53癌抑制遺伝子変異が関与していると考えられる。

3-17 子宮体癌における Copper-Transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) の発現とプラチナ耐性のマーカーとしての意義

東北大¹, 福島県立医大第2外科²会田剛史¹, 竹林勇二², 清水孝郎¹, 伊藤 潔¹, 竹之下誠一², 岡村州博¹, 八重樫伸生¹

【目的】 子宮体癌に対する化学療法ではプラチナ製剤が key drug で、プラチナ耐性の予測は重要な課題である。Copper-Transporting P-type Adenosine Triphosphate (ATP7B) は細胞から銅を排出する重要な分子であるが、同時に癌細胞のプラチナ耐性にも深く関与する。そこで子宮体癌での ATP7B の発現を確認し、それがプラチナ製剤を使用した症例の予後に関与するか検討することを目的とした。【方法】 子宮体癌51例に対し説明と同意を得て手術標本の一部を採取し凍結切片を作成した。ATP7B に対する単クローン抗体で免疫組織染色し ATP7B の発現を検討した。【成績】 ATP7B の陽性率は全体で37.3% (19/51) であり、染色陽性となった標本でも非癌部分は染色されなかった。G2・G3での陽性率58% (11/19) は G1での陽性率25% (8/32) に比べ有意に高率であった ($p=0.02$) が、進行期による発現の差は認めなかった。予後不良因子を有する27例に対しシスプラチンを含む術後化学療法を施行したが、この中で ATP7B 陽性は12例、陰性例は15例であった。ATP7B 陽性例のうち6例 (50.0%) で再発転移がみられたのに対し同陰性例では2例 (13%) で再発を認め、陽性例では有意に再発率が高かった ($P=0.04$)。さらに化学療法施行例において陽性群と陰性群で5年生存率と無病生存率を比較すると、陽性群で有意に生存率が低下していた ($P=0.01$)。【結論】 子宮体癌組織における ATP7B の発現はプラチナ耐性のマーカーになる可能性を持つことが示唆された。

3-18 子宮平滑筋肉腫と子宮平滑筋腫における cDNA microarray を用いた遺伝子発現 profiling に関する検討

東京・佐々木研杏雲堂病院¹, 山口大学²三宅清彦¹, 坂本 優¹, 秋谷 司¹, 中野 真¹, 岩淵浩之¹, 室谷哲弥¹, 天神美夫¹, 杉野法広², 加藤 紘²

【目的】 子宮平滑筋肉腫 (LMS) 3例、子宮平滑筋腫 (LM) 3例の臨床症例に対して cDNA microarray を用いて遺伝子発現の相違を解析し、臨床診断への応用が可能であるか検討した。【方法】 患者から採取した LMS 組織または LM 組織の total RNA を Cy3 で、control として正常子宮筋層組織の10例の total RNA を Cy5 で蛍光標識し、cDNA プローブを製。ハイブリダイゼーション後、Cy3 と Cy5 の各遺伝子の蛍光強度を測定・数値化した。Cy3, Cy5 各症例の遺伝子蛍光強度を割った値を発現比とした。発現比が0.5~2.0のものは、発現に変化のないものとした。内部 control 遺伝子を用い、信頼性が低い遺伝子はあらかじめ解析から除外した。変化の認められた遺伝子に対し、Welch の t 検定で p 値が0.05以下の遺伝子群を抽出し、発現相同性によりクラスタリングを行った。グループ分けに対する遺伝子の相関をもとに、重み付け診断スコアとみなした。発現の高い遺伝子に対し LMS 7例, LM 10例, 富細胞平滑筋腫 3例について ABC 法を用い、免疫染色を行った。診断スコア、免疫染色の結果をもとに5年生存率を比較検討した。【成績】 LMS, LM を比較し、有意に発現が増加した遺伝子8個、減少した遺伝子16個であった。LMS で発現が増加した遺伝子は DNA 修復関連遺伝子 (TOP2A, PCNA), 細胞周期関連遺伝子関連遺伝子 (CPNEF 等), 発現が減少した遺伝子は細胞接着因子 (VCL, ITGA 等) 等が認められた。【結論】 作成した LMS の診断スコアは組織診断と相関しており、新しい遺伝子診断法として応用でき、また化学療法における TOP2阻害剤の有効性が推測された。