

2006年2月

一般演題

391(S-243)

## P1-61 サイトケラチン19を用いたOne-step RT-PCRによる子宮体癌患者リンパ節中の腫瘍細胞の検出

秋田大

佐藤宏和, 小西祥朝, 藤本俊郎, 田中秀則, 高橋道, 田中俊誠

【目的】臨床的には遠隔転移を認めず、根治的な手術を施行し得た子宮体癌患者においても、再発をしばしば経験する。これらの再発は従来の方法では検出不可能なごく少数の残存腫瘍細胞によって引き起こされると考えられる。本研究では子宮体癌患者のリンパ節における腫瘍細胞の定量的検出法を確立することを目的とした。【方法】同意を得られた子宮体癌患者14人の延べ218個のリンパ節を対象とした。上皮系細胞にのみ発現を認めるサイトケラチン19(CK19)mRNAを、リンパ節内における腫瘍細胞の検出マーカーとした。18S ribosomal RNAをインターナルコントロールとし、各リンパ節におけるCK19mRNAの発現をライトサイクリーを用いたTaqMan法によるOne-step RT-PCR法を用いて定量的に解析した。【成績】1.この定量法では、直線的な検量線が得られ、10<sup>0</sup>個の末梢血単核球中にある10~10<sup>6</sup>個のCK19 mRNA陽性細胞(乳癌細胞株MCF-7)を検出可能であった。2. CK19 mRNAは62個のリンパ節で検出されたが、カットオフ値を超える陽性リンパ節は6人の患者から得られた33個であった。3. 陽性リンパ節率は病理学的にいずれかのリンパ節に転移を認めた患者群の方が、この方法でのみ陽性リンパ節を認めた患者群に比べ高かった( $p<0.001$ )。4. 病理学的に転移を認めなかった患者の中で、いずれかのリンパ節がCK19 mRNA陽性となった群のリンパ節では、すべてがカットオフ値以下となった群と比較して、CK19 mRNAの検出率が高かった( $p<0.001$ )。【結論】この方法はリンパ節内における癌細胞の感度、特異性の高い迅速な定量法である。

## P1-62 子宮内膜癌におけるBRAFおよびK-RAS遺伝子の活性化点突然変異解析

慶應大

川口牧子, 阪埜浩司, 矢野倉恵, 桑原佳子, 進伸幸, 塚崎克己, 青木大輔, 吉村泰典

【目的】MAPキナーゼ経路で機能するRAS/RAFファミリー遺伝子の点突然変異と発癌との関連が指摘されている。最近、大腸癌においてBRAF遺伝子の活性化点突然変異(V600E)が高率に生じていることが報告され、さらにこの点変異は遺伝性大腸癌では検出されず、散発性大腸癌の発癌機構を解明するうえで大変注目されている。今回、我々は子宮内膜癌の発癌機構におけるBRAFやK-RAS遺伝子の活性化点突然変異との関連を明らかとすることを目的とし、遺伝子変異解析を実施した。【方法】ヒト子宮内膜癌由来細胞株8株および検体使用の同意が得られた子宮内膜癌手術組織50例から抽出したDNAを用い、BRAF遺伝子のexon15(codon600), K-RAS遺伝子のexon1(codon12および13)の遺伝子変異をPCRおよびダイレクトシーケンス法で解析した。【成績】ヒト子宮内膜癌由来細胞株8株中3株(37.5%)および子宮内膜癌50例中7例(14%)にK-RAS遺伝子のcodon12の活性化点突然変異(G12V3例, G12D3例, G12A1例)を認めた。しかしながら、BRAF遺伝子codon600およびK-RAS遺伝子codon13点突然変異はヒト子宮内膜癌由来細胞株および子宮内膜癌組織では認められなかつた。【結論】子宮内膜癌の発癌にBRAF遺伝子の活性化点突然変異(V600E)は関与しておらず、K-RAS遺伝子の点突然変異も低頻度であることから、子宮内膜の発癌におけるMAPキナーゼ経路の異常は大腸癌とは大きく異なることが推測された。

## ★P1-63 家系内癌集積性を有する子宮体癌症例を対象としたDNAミスマッチ修復(MMR)遺伝子の生殖細胞変異解析

慶應大<sup>1</sup>, 癌研究会癌研究所遺伝子診断部<sup>2</sup>阪埜浩司<sup>1</sup>, 矢野倉恵<sup>1</sup>, 進伸幸<sup>1</sup>, 川口牧子<sup>1</sup>, 桑原佳子<sup>1</sup>, 平尾薫丸<sup>1</sup>, 塚崎克己<sup>1</sup>, 三木義男<sup>2</sup>, 青木大輔<sup>1</sup>, 吉村泰典<sup>1</sup>

【目的】子宮体癌の一部は家族性腫瘍である遺伝性非ポリポーラス大腸癌(HNPCC)に関連し、MMR遺伝子の生殖細胞変異により発生すると考えられている。家族性子宮体癌に関しては病態も不明な点が多く、有効なスクリーニング法も確立されていない。今回我々は、家系内癌集積性や重複癌を有する子宮体癌症例に注目し、病態解明を目的としてMMR遺伝子の生殖細胞変異を解析した。【方法】子宮体癌症例のなかで、子宮体癌症例を発端者として第一度近親者に2例以上のHNPCC関連腫瘍(大腸癌、子宮体癌、小腸癌、尿管および腎孟癌、胃癌、卵巣癌、乳癌)を認めた症例(A群)、もしくは、同時または異時性にHNPCC関連腫瘍が重複した子宮体癌症例(B群)計37例に対し、施設内倫理委員会の承認および十分な同意のもと、白血球由来DNAを抽出し、3種のMMR遺伝子(*hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6*)の生殖細胞変異をダイレクトシーケンス法で解析した。【成績】A群26例中6例(23.1%)でMMR遺伝子の生殖細胞変異を認め、変異を有さない20例に比し、発症年齢の平均が約7歳若かった。一方、B群11例では変異は同定されなかった。変異を有する症例のうち*hMSH6*遺伝子のフレームシフト変異が3例と最も高頻度であった。変異を有する6症例はいずれも現在のHNPCCの臨床診断基準を満たしていなかった。【結論】子宮体癌患者の家系内の癌集積性に注目することで高率にMMR遺伝子の生殖細胞変異を発見することができた。また原稿の診断基準ではHNPCCと診断されないさらに多くの家族性子宮体癌が存在し、その発癌に*hMSH6*遺伝子変異が特に重要であると示唆された。