

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 CK19 mRNA の発現をライトサイクラーを用いた 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、 10^6 個の末梢血単核球中にある $10 \sim 10^6$ 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に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 (G12V 3 例, G12D 3 例, G12A 1 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った。【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ってい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¹, 癌研究会癌研究所遺伝子診断部²阪埜浩司¹, 矢野倉恵¹, 進 伸幸¹, 川口牧子¹, 桑原佳子¹, 平尾薫丸¹, 塚崎克己¹, 三木義男², 青木大輔¹, 吉村泰典¹

【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シス大腸癌 (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, 尿管および腎盂癌, 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。