

P2-14-3 初代培養, cell sorting system で抽出した DNA を用いた子宮内膜症関連卵巣癌の遺伝子解析

島根大

石川雅子, 中山健太郎, 佐貫 薫, 山下 瞳, 佐藤絵美, 中村康平, 石橋朋佳, 片桐 浩, 片桐敦子, 飯田幸司, Razia Surutana, 京 哲

【目的】卵巣癌には子宮内膜症を発生母地とする明細胞癌と類内膜癌があるが, 2つの組織型は, 悪性度, 化学療法感受性においても大きな差がある。今回, 手術検体を初代培養し anti-EpiCAM-conjugated beads とマグネットを用い cell sorting を行い, 間質細胞(-)の腫瘍細胞のみから DNA 抽出を試みた。この手法を用い, 明細胞癌と類内膜癌の遺伝子解析を行い, 各々の発癌機構について検討した。【方法】当院倫理委員会で承認されインフォームドコンセントで同意を得た卵巣明細胞癌 9 例, 類内膜癌 10 例から上記手法で DNA を抽出した。サンガーシーケンス法で ARID1A, p53, KRAS, PIK3CA, POLE, PTEN の遺伝子変異について検討した。【成績】ARID1A, p53, PIK3CA, POLE 変異の頻度は, 明細胞癌で 77.8% (7/9), 22.2% (2/9), 0% (0/9), 22.2% (2/9), 類内膜癌で 90% (9/10), 40% (4/10), 10% (1/10), 40.0% (4/10) であった。既存の報告より ARID1A 変異率は高く, ARID1A 変異をベースに PIK3CA, KRAS その他の遺伝子変異が認められた。また ARID1A 変異と子宮内膜症の有無との関連は認めなかった。相互排他的な関係と考えられている ARID1A と p53 の遺伝子変異を同時に認める症例は進行期もアドバンスで非常に予後不良であった。【結論】初代培養, cell sorting system から間質細胞のコンタミネーションをほぼ 100% 防止した DNA 抽出に成功した。この新しい手法を用いたところ, ARID1A 変異率は明細胞癌, 類内膜癌ともに既存の報告よりも高頻度であり, より正確な結果をもたらすと考えられた。卵巣明細胞癌, 類内膜癌においては, ARID1A 変異をベースにその他の遺伝子変異が修飾され, 癌化につながる可能性が示唆された。

P2-14-4 転写因子 HNF-1beta は卵巣明細胞腺癌において Usp28 の発現を介して Claspin-Chk1 のリン酸化を維持させる奈良県立医大¹, 兵庫県立がんセンター研究部²吉元千陽¹, 須藤 保², 伊東史学¹, 重富洋志¹, 成瀬勝彦¹, 佐道俊幸¹, 小林 浩¹

【目的】我々は卵巣明細胞腺癌において転写因子 HNF-1beta が DNA 損傷チェックポイント機構に重要な役割を示す Chk1 のリン酸化活性を維持させ, 細胞死の誘導を阻害し抗がん剤抵抗性を示すことを報告した。今回は, HNF-1beta がどのような機序で Chk1 のリン酸化を維持させるのかを明らかにする。【方法】卵巣明細胞腺癌株である TOV21G に, si RNA を用いて HNF-1beta を一過性ノックダウンし, 抗がん剤投与により DNA 損傷を与えた際の Chk1 のリン酸化に関与するタンパクの発現を検討した。【成績】HNF-1beta は Chk1 と結合し, Chk1 の自己リン酸化を促進させる働きをもつ Claspin の発現を介して, Chk1 のリン酸化を維持していた。HNF-1beta の有無で Claspin の mRNA の発現に差はなく, ユビキチン化による分解系に着目した。その結果, HNF-1beta は脱ユビキチン化酵素である Usp28 を過剰に発現させ, Claspin のユビキチン化が減少することで, Claspin の発現を維持していることがわかった。また, HNF-1beta 陽性株において Usp28 を一過性ノックダウンすると, 細胞死の誘導が促進され, 抗がん剤抵抗性が改善した。【結論】HNF-1beta が発現している卵巣明細胞腺癌では, Usp28 を介して Claspin の発現を維持し, Chk1 のリン酸化を維持していた。今後, Usp28, Claspin, Chk1 をターゲットとした治療は, 難治性卵巣明細胞腺癌の新たな治療戦略となる可能性がある。

P2-14-5 卵巣明細胞腺癌における Hypoxia Inducible Factor-1α 遺伝子多型頻度および exon12 C1772T 遺伝子多型が臨床的予後に及ぼす影響埼玉医大¹, 埼玉医大国際医療センター病理², 国立がん研究センター中央病院病理³, 東海大専門診療学系⁴, 埼玉医大国際医療センター⁵鈴木裕之¹, 安田政実², 加藤智美², 鎌田孝一², 吉田正行³, 宮澤昌樹⁴, 岡垣竜吾¹, 藤原恵一⁵, 石原 理¹

【目的】卵巣明細胞腺癌 (Clear Cell Adenocarcinoma; 以下 CCC) は他の組織型の卵巣癌と比し予後不良である。腎臓の CCC では低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor; HIF) が化学療法抵抗性を制御し, 特に HIF-1α の発現が臨床的な予後に相関することが知られている。更にその発現量は HIF-1α 遺伝子 exon12 の C1772T 遺伝子多型 (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) により差が認められるとの報告がある。今回我々は, 卵巣 CCC 患者手術検体における HIF-1α 遺伝子多型と臨床的予後について後方視的検討を行ったので報告する。【方法】当院を含む 4 施設において 1985 年から 2011 年 4 月までに外科的に切除され組織学的に CCC と診断された卵巣癌 89 例について DNA シークエンス法により HIF-1α の C1772T 遺伝子多型を検討した。さらに C1772T 変異の有無により 2 群に分け, 患者背景, 病期, 治療内容, 生存期間, 無病生存率につき倫理委員会の承認を得て検討した。予後の比較には Kaplan-Mayer 生存曲線を用い $P < 0.05$ を有意差ありとした。【成績】C1772T 変異が認められたものは 23.6%, 臨床進行期 I 期では 21.5%, II~IV 期では 29.1% であった。変異 (+) 群と (-) 群の患者背景・病期の分布に差はなかった。生存期間, 無病生存率ともに両群間に有意差はみられなかったが, I 期症例において, 有意差はないものの, むしろ C1772T 変異を有する症例の無病生存率のほうが良好であった ($p=0.0614$)。【結論】卵巣明細胞腺癌のうち 23.6% と高頻度に HIF-1α の C1772T 変異が認められたが, 今回検討した範囲では変異と臨床的予後との相関は証明できなかった。単一の変異では化学療法抵抗性の差異を説明できない可能性があり今後他の因子の関与を含めて検討したい。