

氏名(本籍)	伊藤美穂(愛知県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 280 号
学位授与日付	平成 6 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	卵巣癌における P53 遺伝子の異常 臨床病理学的所見および予後との関連性について
審査委員	(主査)教授 玉 舍 輝 彦 (副査)教授 高 見 剛 教授 野 澤 義 則

### 論 文 内 容 の 要 旨

P53 遺伝子は、癌抑制遺伝子の一つであり様々なヒトの癌について構造が解析され、その構造異常がほとんどの癌で高頻度に存在すること、そしてそれらの異常の大部分が一方のアレルの欠失と残存アレルの点突然変異という異なる二つの変異様式から成ることが明らかとなってきた。

卵巣癌は、女性性器癌の中でも予後不良な疾患の一つであるが、その病因や予後にかかわる遺伝子異常については、いまだ説明されていない。卵巣癌における P53 遺伝子の異常と臨床病態との関連性についてはよく知られていない。そこで本研究では、臨床病理学的背景が明瞭な卵巣癌症例を対象として、それらの P53 遺伝子の構造ならびにこの構造異常と病理学的所見(組織型, 分化度および転移)および臨床病態(臨床進行期, 抗癌化学療法に対する反応性および予後)との関連性を検討した。

#### 研究方法

(1) 対象は卵巣癌 54 例, 良性卵巣腫瘍 14 例である。卵巣癌のホルマリン固定パラフィン包埋組織より, 腫瘍を多く含んだ 20  $\mu$ m 厚さの 20 から 30 枚の連続切片をキシレンで脱パラフィン処理後, プロテナーゼ K により溶解させ, 塩析法により脱蛋白, エタノール沈殿により DNA を抽出した。良性卵巣腫瘍については, 手術時の摘出組織から同様に DNA を抽出した。

(2) P53 遺伝子のエクソン 4, 5, 6, 7 および 8 について, それぞれプライマーを設計し, polymerase chain reaction (PCR) 反応 (DNA の変性: 94°C 20 秒, プライマーアニーリング: 55°C 22 秒, プライマーエクステンション 72°C 30 秒) を 30 サイクルを行い, PCR 産物に対して single-strand conformation polymorphism (SSCP) 解析を行った。

(3) 変異バンドから DNA を溶出させ, DNA 吸着カラムを用いて DNA を精製後, これを鋳型として PCR 増幅を行った。

(4) PCR 産物から DNA を精製し, pT7 Blue T-Vector kit を用いてクローニングし, dideoxy 法によりシーケンスを決定した。

#### 結 果

(1) アレルの欠失は, 卵巣癌の 75% (24/32 例) で認められたが, 良性卵巣腫瘍では認められなかった。

(2) アレルの欠失は, 卵巣癌の臨床進行期が浸潤・転移をとまうと, また組織学的分化度が低いほど多く認められた。

(3) 変異は, 卵巣癌の 26% (14/54 例) で認められたが, 良性卵巣腫瘍では認められなかった。

(4) 変異の型は, 12 例がミスセンス型の点突然変異であり, 2 例が 1 アミノ酸の消失をもたらす 3 塩基欠失であった。変異の部位は, 14 例中 11 例が異なる生物種間で高度に保存された領域のコドンに認められた。また, 14 例中 13 例では, 変異と同時にアレルの欠失も認められた。

(5) 変異は, 卵巣癌の臨床進行期が浸潤・転移をとまうものに多くみられたが, 組織学的分化度とは関連性

を示さなかった。

(6) 組織型別では、漿液性嚢胞腺癌 [アレルの欠失：82% (9/11), 変異：42% (8/19)] と類内膜腺癌 [アレルの欠失：75% (6/8), 変異：42% (5/12)] で他と比べP53遺伝子異常の頻度が高い。

(7) 同一卵巣癌症例の原発巣と転移巣において、P53遺伝子構造に差は認められなかった。また、検討したものは少数例であるが、抗癌化学療法前後の卵巣癌組織においても、P53遺伝子構造に差は認められなかった。

(8) second-look 陰性例では、P53遺伝子変異が陰性である場合が多いが、陰性でも progressive disease であることが大半であった。

(9) P53遺伝子変異を高率に認めた漿液性嚢胞腺癌19例と類内膜腺癌12例の計31例について、変異陽性群と変異陰性群の生存率を比較した。その結果、変異陽性群13例の生存期間中央値 (20.1カ月) は、変異陰性群18例の生存期間中央値 (28.2カ月) よりやや短い傾向にあったものの、両群間の生存期間に有意差は認められなかった。

以上の結果より、P53遺伝子の異常、特にアレルの欠失は、卵巣癌で比較的高く検出されるが、一部の組織型 (漿液性嚢胞腺癌や類内膜腺癌) では高頻度であるためP53遺伝子異常が癌の発生・発育に関与していることが示唆された。癌組織を構成する細胞の heterogeneity のために、P53遺伝子異常の存在だけではその進行や予後を決定するには十分でないが、P53遺伝子異常が卵巣癌の進行度や予後の指標をある程度反映していると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 伊藤美穂は、卵巣癌において、癌抑制遺伝子であるP53遺伝子の異常について検討し、多くの卵巣癌でアレルの欠失が存在し、一部の組織型では高頻度に遺伝子の変異を認めることを明らかにした。本研究の成果は卵巣癌の発生・発育における遺伝子異常の関与の解明に少なからず寄与するものと思われる。

---

### [主論文公表誌]

#### 卵巣癌におけるP53遺伝子の異常

臨床病理学的所見および予後との関連性について

岐阜大医紀 42 (2) : 掲載予定 1994