

Title	Radiation-induced Apoptosisと癌関連遺伝子に関する免疫組織化学的検討
Author(s)	長谷川, 正俊; 山川, 道隆; 三橋, 紀夫 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1995, 55(11), p. 779-780
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14956
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

Radiation-induced Apoptosisと 癌関連遺伝子に関する免疫組織化学的検討

長谷川正俊 山川 通隆 三橋 紀夫 古田 雅也
桜井 英幸 早川 和重 新部 英男

群馬大学医学部放射線医学教室

Immunohistochemical Study of Radiation-induced Apoptosis and Oncogenes

Masatoshi Hasegawa, Michitaka Yamakawa,
Norio Mitsuhashi, Masaya Furuta, Hideyuki Sakurai,
Kazushige Hayakawa and Hideo Niibe

Relationships between radiation-induced apoptosis and oncogenes or suppressor genes (p53, MDM2, c-myc, p21^{ras} and bcl-2) were immunohistochemically studied in 7 human tumors transplanted to nude mice. The most radiosensitive ependymoblastoma was negative for p53 and c-myc, however, the other 6 tumors were positive for them. Following irradiation, the ependymoblastoma became p53 positive, and showed the highest incidence of apoptosis among the 7 tumors. In addition, bcl-2 expression in this tumor was slightly different from that in the others.

Research Code No. : 404.9

Key words : Apoptosis, Radiation, p53, c-myc, bcl-2

Received Apr. 3, 1995 ; revision accepted Jun. 7, 1995

Department of Radiology and Radiation Oncology, Gunma University,
School of Medicine

はじめに

放射線によるapoptosisは、リンパ球、腸粘膜腺窩、高感受性腫瘍等で比較的高率に認められ、最近ではこれに関与する癌遺伝子、癌抑制遺伝子が報告されている。すでに、われわれは、放射線感受性とapoptosisの発現との間に明らかな相関があることをヌードマウス移植ヒト腫瘍を用いて報告した¹⁾。そこで、本研究では、照射効果の異なる7例のヌードマウス移植ヒト腫瘍について、照射前後のapoptosisの発現と5種の癌関連遺伝子発現との関係を免疫組織化学的に検討した。

材料および方法

腫瘍：ヌードマウス移植ヒト腫瘍7例²⁾(膠芽腫3例，上衣芽腫1例，小細胞癌1例，大細胞癌1例，扁平上皮癌1例)。

実験方法：マウス大腿皮下移植腫瘍に、200kV X線(Siemens)で、10Gyの照射を行い、6時間後に腫瘍を摘出した。ホルマリン固定後にパラフィン包埋切片を作成し、Hematoxylin-Eosin染色，ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Oncor)を用いたDNA Nick End Labeling染色，Biotin-Streptavidin法を用いた，p53，c-myc，p21^{ras}，bcl-2染色，ならびにPeroxidase-anti-peroxidase法を用いた，MDM2染色を行った。なお、抗体としては、anti-p53(DAKO)，anti-c-myc(CRB)，anti-p21^{ras}(DAKO)，anti-bcl-2(DAKO)，anti-MDM2(Novacastra)を用いた。また、酵素抗体法では、オートクレープを用い、120℃で前処理し染色を行った。

結 果

apoptosis：7腫瘍とも照射前は低率であった。照射後は、上衣芽腫が最も高率で、小細胞癌がこれに次ぎ、他の5例は低率であった(Fig.1(A)，Table 1)。

p53：照射前は、上衣芽腫のみ陰性、他の6例は核が陽性で、特に、小細胞癌、大細胞癌、扁平上皮癌は強陽性であった。照射後、6例は同様だったが、上衣芽腫では陽性率の

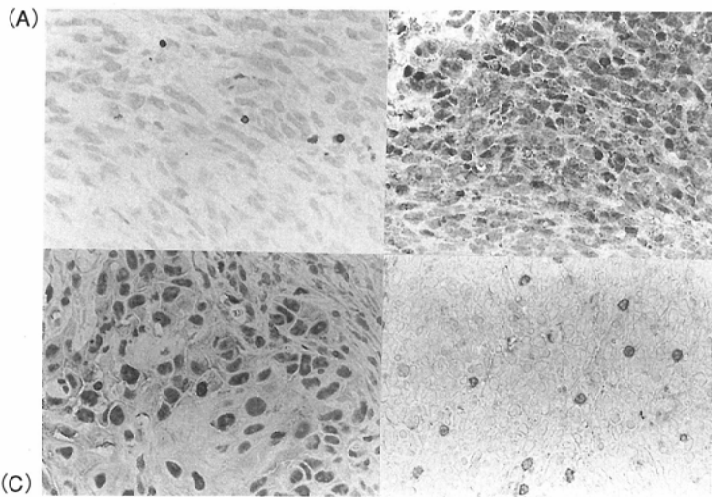


Fig.1 Histological Features 6 hours after Irradiation.
 (A) A few condensed nuclei were ApoptTag positive (glioblastoma-1).
 (B) Most tumor cells became p53 positive (ependymoblastoma).
 (C) Most tumor cells were c-myc positive (squamous c.c.)
 (D) Some tumor cells became bcl-2 positive (ependymoblastoma).

顕著な増加が認められ (Fig.1 (B)), apoptosisの出現とはほぼ一致していた (Table 1).

MDM2: 7例は、照射前後とも、軽微な弱陽性または陰性であった。

c-myc: 照射前後とも、上衣芽腫のみ陰性で、他6例では陽性所見が認められた。p53同様、特に、小細胞癌、大細胞癌、扁平上皮癌の3種の癌で顕著だった (Fig.1 (C))。

p21^{ras} (c-H-ras): 7例の照射前後のいずれでも、明確な陽性所見は認められなかった。

bcl-2: 照射前、上衣芽腫、膠芽腫の一部は軽微な弱陽性で、その他は陽性であった。照射後、6例はほぼ同様であったが、上衣芽腫では、散在性に明瞭な陽性細胞が出現した (Fig.1 (D))。ただし、apoptosis出現率やp53陽性率の変化に比して低率であった (Table 1)。

考 察

p53, c-myc, c-rasはapoptosis誘導に^{3), 4)}, bcl-2は抑制に関係するとされている。本研究でもradiation-induced apoptosisの高率な上衣芽腫¹⁾と他の6腫瘍では、p53, c-

文 献

- 1) 長谷川正俊, 山川通隆, 新部英男, 他: ノードマウス移植ヒト腫瘍の放射線感受性とアポトーシスに関する実験的検討. 日放腫会誌 7: 47-53, 1995
- 2) Hasegawa M, Niibe H, Yamakawa M, et al: Morphological changes of irradiated human gliomas in nude mice. Brain Tumor Pathol 8: 223-225, 1991
- 3) Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, et al: p53 is required for radiation induced apoptosis in mouse thymocytes. Nature 362: 847-849, 1993

Table 1 Summary of the Results

		EBL	SCC	LCC	SQC	GB1	GB2	GB3
Apoptosis	control	±	±	±	±	±	±	±
	10 Gy	#	+	±	±	±	±	±
p53	control	-	#	#	#	#	+	+
	10 Gy	#	#	#	#	#	+	#
MDM2	control	±	-	±	-	±	±	-
	10 Gy	±	-	±	-	±	±	-
c-myc	control	-	#	#	#	#	+	+
	10 Gy	-	#	#	#	#	+	#
p21	control	-	-	±	-	-	-	-
	10 Gy	-	-	±	-	-	-	-
bcl-2	control	±	#	+	+	+	±	±
	10 Gy	+	#	#	+	+	±	±

EBL: ependymoblastoma, SCC: small c.c., LCC: large c.c.,

SQC: squamous c.c., GB1-3: glioblastoma 1-3

Incidence of apoptosis: +++>20%, 20% ≥+++>10%, 10% ≥+>2%, 2% ≥+/->0%, 0% =-.

Percentage of positive cells (p53, MDM2, c-myc, p21, bcl-2): +++>75%, 75% ≥+++>25%, 25% ≥+>5%, 5% ≥+/->1%, 1% ≥-.

myc, bcl-2の発現様式が異なっていた。特に上衣芽腫照射後のp53発現は、DNA損傷時にwild-typeが発現してapoptosisを誘導すること³⁾とよく一致する。しかし、他の6例では照射前に発現していることから、mutant-typeが発現していると考えられる。なぜならば、mutant-typeは半減期が長いため、照射などのストレスが加わらなくても、つねに核内に蓄積されていると考えられるからである⁵⁾。なお、p53に結合可能なMDM2の明らかな発現は認めず、また、p53とbcl-2の明らかな相関⁶⁾も認められなかった。照射後にapoptosisとともに少数出現したbcl-2陽性細胞の意義は明らかでない。今後は、さらに直接的に遺伝子レベルで検索して、以上の結果と対応させる必要がある。