



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Immunohistochemical study of p53 expression in microwave-fixed, paraffin-embedded sections of colorectal carcinoma and adenoma                  |
| Author(s)    | 川崎, 靖仁                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38322">https://hdl.handle.net/11094/38322</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|             |                                                                                                                                                                                      |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | 川 崎 靖 仁                                                                                                                                                                              |
| 博士の専攻分野の名称  | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                            |
| 学 位 記 番 号   | 第 1 0 3 4 0 号                                                                                                                                                                        |
| 学位授与年月日     | 平成 4 年 6 月 8 日                                                                                                                                                                       |
| 学位授与の要件     | 学位規則第 4 条第 2 項該当                                                                                                                                                                     |
| 学 位 論 文 名   | Immunohistochemical study of p53 expression in microwave-fixed paraffin-embedded sections of colorectal carcinoma and adenoma<br>(大腸癌および腺腫の microwave 固定パラフィン切片における p53 発現の免疫組織学的検討) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 森 武貞<br>(副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 北村 幸彦                                                                                                                                            |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目 的】

癌の発生には癌遺伝子の活性化とともに癌抑制遺伝子の不活性化が深く関与していることが明らかになってきた。第 17 番染色体短腕に位置する p53 遺伝子も癌抑制遺伝子の 1 つと考えられ、種々の癌で相同遺伝子の一方が欠失するとともに対立遺伝子にも突然変異をきたして、正常の機能を逸失した変異蛋白が異常蓄積していることが証明されている。したがって、この蛋白の異常蓄積が p53 遺伝子の異常を反映すると考えられ、p53 に対する抗体を用いた免疫組織学的検索が行われている。しかし、この蛋白の抗原性が固定操作中に失活しやすいため、これまでの研究は専ら凍結切片に限られていた。本研究は、抗原性と形態の両者の保存に優れた microwave 照射固定法をもち、パラフィン切片上で p53 の検出をおこなうとするもので、この固定法で調整した大腸癌やその前癌病変として重要視される大腸腺腫を対象として、その臨床病理学的所見と p53 との関連を明らかにすることを目的とした。

#### 【方 法】

手術あるいは内視鏡により切除した大腸癌 84 例、大腸腺腫 44 例の組織を希釈アルデヒド溶液 (2% formaldehyde, 0.05% glutalaldehyde, 0.05M cacodylate buffer, 0.025% calcium chloride) 中に浸し、直ちに microwave (2,450MHz, 500W) の 20 秒間照射による迅速固定を施行して、パラフィン包埋した。固定法による差を比較検討するため、20 症例については凍結切片も作製し、アセトン固定を行った。またエタノール酢酸固定パラフィン切片との比較も行った。各切片について、p53 に対するモノクローナル抗体 (PAb1801) を一次抗体とする avidin-biotin peroxidase complex (ABC) 法による免疫染色を施行した。

#### 【成 績】

Microwave 固定パラフィン切片上で、癌細胞の核に局在する p53 が鮮明に染色され、その結果は凍結切片と完全に一致した。エタノール固定標本においても p53 は検出可能であったが、その染色は弱く組織の収縮が著しかった。Microwave 固定標本を用いた免疫染色の結果、癌では p53 の異常蓄積が 84 例中 51 例 (60.7%) に認められたが、隣接する正常粘膜には p53 はまったく検出されなかった。p53 の検出される大腸癌症例では、大多数の癌細胞が核内に p

p53を蓄積しているのが観察された。p53の異常蓄積と臨床病理学的要因の関係をみると、Dukes分類ではDukes,Dの高度進行症例がDukes,A,B,Cに比して有意にp53の陽性率が高かったが、p53の陽性率は組織型や腫瘍の深達度には影響されず、粘膜内あるいは粘膜下層にとどまる早期癌においても高率であった。一方、腺腫44個の検索で、p53が腺腫細胞の核に検出されたのは4個(9%)のみで、しかも腺腫内のごく少数の腺管に限られていた。形態学的な検討からは、p53陽性の腺管は分岐蛇行する傾向を有したが、細胞異型の面からは、周囲のp53陰性腺管との相違を指摘することはできなかった。

#### 【総括】

1. Microwave照射固定法を応用することで、パラフィン切片上でp53の異常蓄積を免疫組織学的に検出することが可能であった。
2. 大腸癌では、p53の異常が6割以上に検出され、早期癌でも高率であることから、この遺伝子異常が大腸癌発生の初期相に関与することが示唆された。
3. 大腸腺腫におけるp53の異常は癌に較べると低頻度ではあるが、一部の腺腫はp53遺伝子に異常をきたしており、癌発生の母地となる可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、癌抑制遺伝子産物のひとつであるp53蛋白の大腸癌および腺腫における異常蓄積を、microwave固定法により免疫組織学的に同定し、p53蛋白の異常蓄積と臨床病理学的所見との関連を明らかにしたものである。癌では、p53蛋白の異常蓄積は60%以上の症例に認められ、その陽性率は、腫瘍径、組織型、壁深達度に影響されず、早期癌でも進行癌と同様の高い陽性率であった。腺腫では、約10%の症例のごく一部の腺管に陽性細胞が認められた。この研究により、p53遺伝子の異常が大腸癌発生の初期相に関与することが示され、またこの蛋白の異常を同定することで、形態学的には良性の病変の中に癌の‘芽’を見いだし得る可能性が示唆された。これらの知見は大腸癌の組織発生を理解する上で重要であり、学位に値する業績と考える。