

Title	Alterations of the p53 tumor suppressor gene and its association with activation of the c-K- ras -2 protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium.
Author(s)	榎本, 隆之
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38477">https://hdl.handle.net/11094/38477</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	えの 榎      もと 本      たか 隆      ゆき 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 1 6 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 15 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	<b>Alterations of the <i>p53</i> tumor suppressor gene and its association with activation of the c-K-ras -2 protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium.</b> (子宮内膜癌に於ける c-K-ras-2 癌原遺伝子及び <i>p53</i> 癌抑制遺伝子の異常とその意義)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷 澤 修 (副査) 教 授 野 村 大 成    教 授 北 村 幸 彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

子宮内膜癌は、一連の増殖性前癌病変を経て段階的に発生することが、臨床病理学的にまた分子遺伝子学的に明らかにされてきた。しかし、癌発生の一連の過程において、本質的役割を担うと考えられる癌原遺伝子及び癌抑制遺伝子の変化については、あまり解明されていない。本研究では、子宮内膜癌およびその前癌病変における c-K-ras-2 遺伝子の活性化、及び種々のヒト癌において高頻度に異常が報告されている *p53* 癌抑制遺伝子の変化を検索し、遺伝子変化の機序、それぞれの遺伝子変化と臨床病理学所見との関連性について検討した。

#### 【方法】

1. 子宮内膜癌、子宮内膜増殖症の手術摘出標本あるいはパラフィン包埋病理切片及び患者白血球より DNA を抽出し以下の検索に用いた。
2. K-, H-, N-ras 遺伝子の codon 12, 13, 61 各部位を含む領域を PCR にて増幅し、点突然変異特異的な oligonucleotides との dot blot hybridization によって K-, H-, N-ras 遺伝子の codon 12, 13, 61 の点突然変異を検索した。
3. K-ras 遺伝子の点突然変異についてはさらに direct sequencing 法を用いて検索した。
4. *p53* 遺伝子の exon 5-8 領域の突然変異を、各 exon を PCR 増幅後 Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) 法にて検索し、突然変異の存在が疑われた症例については direct sequencing 法にて変異を同定した。
5. *p53* 遺伝子のヘテロ接合性の消失 (LOH) を、codon 72 の多型性を利用した PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 解析法および PCR-SSCP 法にて検索した。

#### 【成績】

1. K-ras の点突然変異は子宮内膜癌 57 例中 17 例 (31%) に検出されたが、組織学的悪性度別にみると、高分化型腺癌では 33 例中 10 例 (30%)、中分化型腺癌で 8 例中 3 例 (38%)、低分化型腺癌で 16 例中 4 例 (25%) と有意な差はなかった。また前癌病変の子宮内膜異型増殖症では 27 例中 4 例 (15%) に検出されたが、良性病変と考えられている腺腫性増殖症 6 例及び嚢胞性増殖症 12 例中には突然変異は検出されなかった。点突然変異は全て codon 12 または 13 にあり、codon 59-63 の領域には存在しなかった。K-ras 以外では、N-ras の codon 12 の点突然変異が子宮内膜癌で 1 例検出された。

2. *p53* の LOH は患者白血球に codon 72 のヘテロ接合性を認めた内膜癌19例中 6 例にまた異型増殖症 4 例中 1 例に認められた。
3. *p53* の exon5-8 領域の突然変異は内膜癌40例中 9 例 (23%) に、また異型増殖症13例中 1 例 (8%) に認められた。組織学的悪性度別にみると、高分化型腺癌 ( $G_1$ ) 19例中 2 例 (11%), 中分化型腺癌 ( $G_2$ ) で 7 例中 1 例 (14%), 低分化型腺癌 ( $G_3$ ) で14例中 6 例 (43%) にみられ、突然変異は低分化型腺癌のほうが中または高分化型腺癌より有意に高頻度に認められた ( $p=0.03$ )。10例の突然変異を持つ症例のうち 9 例に LOH を伴っていることが codon 72 の多型性解析 (PCR-RFLP 法または PCR-SSCP 法), あるいは突然変異検出のための PCR-SSCP 法の際にみられた野生型アレルのバンド消失により判明した。10例の突然変異を direct sequencing 法にて同定したところ, 7 例は 1 塩基置換型突然変異であり, うち 6 例が missense mutation, 1 例が nonsense mutation であった。また 1 塩基及び 2 塩基の挿入変異, 及び 1 塩基の欠失変異が各々 1 例に認められた。7 例の点突然変異のうち 5 例は G:C 塩基対から A:T 塩基対への transition (うち全例が CpG site の変異), 1 例は G:C 塩基対から T:A 塩基対への transversion, 残る 1 例は G:C 塩基対から C:G 塩基対への transversion であり, A:T 塩基対からの変異は 1 例も認めなかった。

#### 【総括】

1. 子宮内膜癌において, *K-ras* 癌原性遺伝子の点突然変異による活性化及び *p53* 癌抑制遺伝子の不活性化が高頻度に見られることより, 子宮内膜の癌化に両遺伝子が重要な役割を果たしていることが示唆された。
2. *K-ras* 遺伝子の変化は異型増殖症で比較的高頻度に見られるのに対し, *p53* 遺伝子の変化は低分化型腺癌に有意に高頻度に見られることより両遺伝子の子宮内膜癌化における役割が異なることが示唆された。
3. *K-ras*, *p53* 遺伝子の点突然変異のすべては G:C 塩基対からの変異であり, G:C 塩基対から, A:T 塩基対への transition が *K-ras* 遺伝子で50%, *p53* 遺伝子で71%と最も高頻度に見られ, 両遺伝子の突然変異の成因に共通の機構の存在が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

子宮内膜癌は、一連の増殖性前癌病変を経て段階的に発生することは、臨床病理学的に明らかにされてきたが、癌発生の一連の過程において、本質的役割を担うと考えられる癌原遺伝子及び癌抑制遺伝子の変化については、ほとんど解明されていなかった。本研究では、子宮内膜癌およびその前癌病変における *c-K-ras-2* 遺伝子の活性化、及び種々のヒト癌において異常が報告されている *p53* 癌抑制遺伝子の変化を検索し、それぞれの遺伝子変化と臨床病理学所見との関連性について検討し以下の新しい知見を得た。1. 子宮内膜癌において, *K-ras* 癌原性遺伝子の点突然変異による活性化が31%に, *p53* 癌抑制遺伝子の突然変異による不活性化が23%に見られることより, 子宮内膜の癌化に両遺伝子が重要な役割を果たしていること。2. *K-ras* 遺伝子の変化は異型増殖症で比較的高頻度に見られるのに対し, *p53* 遺伝子の変化は低分化型腺癌に有意に高頻度に見られることより *K-ras* 遺伝子の変異は子宮内膜癌化の比較的早期変化であるのに対し, *p53* 遺伝子の変化は比較的晩期変化であること。3. *K-ras*, *p53* 両遺伝子の点突然変異のすべては G:C 塩基対からの変異であり, G:C 塩基対から, A:T 塩基対への transition が *K-ras* 遺伝子, *p53* 遺伝子とも最も高頻度に見られ, 両遺伝子の突然変異の成因に共通の機構の存在する可能性。以上, 本研究は子宮内膜の癌化における, *K-ras* 癌原性遺伝子の点突然変異による活性化及び *p53* 癌抑制遺伝子の不活性化の役割を初めて明かにした点において学位に値すると考えられる。