



Title	A Frequent Alteration of p53 Gene in Carcinoma in Adenoma of Colon
Author(s)	大植, 雅之
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39444">https://hdl.handle.net/11094/39444</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	大 植 雅 之
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 2 1 0 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 0 月 4 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	A Frequent Alteration of <i>p53</i> Gene in <i>Carcinoma in Adenoma</i> of Colon (ヒト大腸腺腫内癌における <i>p53</i> 遺伝子の異常と発癌への関与)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 高 井 新 一 郎      教 授 青 笹 克 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

癌の発生には癌遺伝子の質的, 量的な変化とともに, 種々の癌抑制遺伝子の異常が関与すると考えられている。特に17番染色体短腕上に位置する癌抑制遺伝子 *p53* は大腸癌をはじめ, 肺癌, 乳癌, 卵巣癌, 骨肉腫など種々の悪性腫瘍で広範にその異常が検出され, *p53* の変化が細胞の癌化に重要な役割を担っていることが推測される。

現在まで大腸の進行癌における *p53* 遺伝子異常の報告は多くなされているが, この *p53* 遺伝子の異常が大腸発癌のどの段階で関与しているのかについてはいまだに不明な点が多い。また, 大腸癌発生には adenoma - carcinoma sequence に基づく発癌以外に de novo の発癌様式の存在が示唆されているが, 現在までの報告ではこの2種の発癌様式を区別して解析を行ったものは少ない。今回, 我々が対象とした大腸腺腫内癌は adenoma - carcinoma sequence における最も初期の癌病変と考えられ, また同一標本において正常粘膜, 腺腫との比較検討も行える為, 腺腫から癌に至る段階に関与する遺伝子変化を解析するには最適の臨床材料である。

本研究は, ヒト大腸腺腫内癌における *p53* の異常を免疫組織学的ならびに分子生物学的な手法を用いて解析することにより, *p53* 遺伝子の大腸発癌における関与およびその時期を明らかにすることを目的とする。

### 【方 法】

大腸腺腫内癌36例の切除標本をマイクロウェーブ照射で固定しパラフィンに包埋後, 連続切片を作製し, まずHE染色及び抗 *p53* モノクローナル抗体 PAb 1801 を用いたABC法による免疫染色を行なった。次に組織異型度と免疫染色性を考慮しながら顕微鏡下にエオジン染色した隣接切片 (8  $\mu$  mx4枚) より正常腺管, 腺腫, 及び癌部分をそれぞれ切り出しDNAを抽出した。最終的には36症例より36の正常腺管, 15の軽異型度 (mild dysplasia) 腺腫, 22の中異型度 (moderate dysplasia) 腺腫, 及び38の癌組織由来のDNAが得られた。*p53* 遺伝子のmutationの解析には, exon 5 - 8 についてPCR - single strand conformation polymorphism (SSCP) 法を用い, 一部の症例ではcloning 後 sequencing を行ない塩基配列を確認した。LOHの解析には *p53* 遺伝子の3'flanking region の BamHI site を利用したPCR - restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法を用いた。

## 【結 果】

1. 大腸腺腫内癌における p53 遺伝子の mutation は、軽異型度腺腫では 7 % (1/15), 中異型度腺腫では 14 % (3/22) と、すでに腺腫段階から生じていたが低率であった。一方, focal carcinoma では 43 % (16/38) と mutation が高率に認められた。LOH は腺腫の一例を除き他はすべて focal carcinoma (40 % : 6/15) に生じていた。同様の傾向は免疫組織学的にも認められた (腺腫 9 %, focal carcinoma 53 %)。また, これら腺腫内癌における p53 遺伝子異常の割合は, 大腸進行癌の p53 遺伝子異常の割合と大差はなかった。以上より, p53 の異常は focal carcinoma が進行癌に至る過程よりむしろ focal carcinoma の発生に関与していると考えられた。
2. 免疫染色の結果と遺伝子異常の有無とはよく相関しており, 免疫染色陽性腺管から得られた DNA の 78 % (18/23) に mutation や LOH が検出された。一方, 陰性腺管では 13 % (7/52) に遺伝子の異常を認めたが, これらは大部分が exon 6 の nonsense mutation であり, PAb1801 が mutation の種類によっては epitope を認識できなくなる可能性が示唆された。

## 【総 括】

大腸腺腫内癌における p53 遺伝子の異常を免疫組織学的及び分子生物学的手法を用いて解析した。adenoma - carcinoma sequence に基づく大腸癌発生において, p53 の遺伝子異常は発癌の初期, 即ち微小な focal carcinoma が生じる critical point に関与していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒト大腸腺腫内癌における p53 遺伝子の異常を免疫組織学的ならびに PCR を利用した分子生物学的な手法を用いて解析し, p53 遺伝子の大腸癌発生への関与およびその時期を明らかにすることを目的としたものである。その結果, p53 の遺伝子異常は adenoma - carcinoma sequence に基づく発癌の初期段階, 即ち微小な focal carcinoma が生じる critical point に関与していることが示唆された。さらに免疫染色陽性所見は実際の遺伝子異常を反映していることが明らかになった。本研究は、今後、癌抑制遺伝子 p53 の異常による発癌様式を解明する上で重要な示唆を与えており、大腸癌のみならず広く一般の腫瘍の発生進展機構の解明にも大いに寄与するものであり、学位に値するものとする。