



Title	p16INK4A, pRB, p53 and Cyclin D1 Expression and Hypermethylation of CDKN2 Gene In Thymoma and Thymic Carcinoma
Author(s)	平林, 弘久
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41248">https://hdl.handle.net/11094/41248</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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	平 林 弘 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 6 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 10 月 6 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	p16 <sup>INK4A</sup> , pRB, p53 and Cyclin D1 Expression and Hypermethylation of CDKN2 Gene In Thymoma and Thymic Carcinoma (胸腺腫及び胸腺癌における p16 <sup>INK4A</sup> , pRB, p53, Cyclin D1 の発現異常と CDKN2, p53 遺伝子異常の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 青 笹 克 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目的]

細胞周期の G1 期から S 期への進行は、pRB のリン酸化により起こるとされており、このリン酸化を行うのが Cyclin D1 と Cyclin Dependent Kinase (CDK) で、さらにこれらの酵素活性は p16<sup>INK4A</sup> により阻害される。これら一連の経路で、RB 遺伝子、p16<sup>INK4A</sup> をコードする CDKN2 遺伝子は癌抑制遺伝子、cyclin D1 遺伝子は癌遺伝子と考えられており、種々の悪性腫瘍で発現異常や遺伝子異常が見いだされている。また、同じく G1/S 期に関係する癌抑制遺伝子 p53 も多くの悪性腫瘍で遺伝子変異による不活化が報告されている。

しかしこれまで胸腺上皮より発生する胸腺腫及び胸腺癌については癌抑制遺伝子や癌遺伝子の発現異常、遺伝子異常について検討した報告はほとんどみられない。本研究では、癌抑制遺伝子産物である p16<sup>INK4A</sup>, pRB, p53 と癌遺伝子産物である Cyclin D1 が胸腺腫と胸腺癌の発生、進行に関与しているかどうかを明らかにする目的で、これら蛋白の発現異常の頻度を検索し、その発現頻度と臨床的進行度の関係を検討した。さらに p53 の発現異常に関しては p53 遺伝子変異の検討を行った。p16<sup>INK4A</sup> の発現異常に関しては CDKN2 の遺伝子変異に加え、CDKN2 遺伝子プロモーター領域のメチル化の関与についても検討した。

### [方法]

胸腺腫36例と胸腺癌3例の計39例を対象とした。正岡の病期分類では、胸腺腫はⅠ期16例、浸潤型のⅡ期11例、Ⅲ期9例で、Ⅰ期を非浸潤型、Ⅱ期以上を浸潤型と分類した。胸腺癌はⅢ期2例、Ⅳ期1例で全例浸潤型であった。蛋白発現異常の検索は、ホルマリン固定、パラフィン包埋した外科的切除標本を用い免疫組織染色により行った。遺伝子変異の検索は、切除標本より DNA を抽出し、p53 遺伝子の exon 5, 6, 7, 8 と CDKN2 遺伝子の exon 1, 2, 3 を PCR-SSCP (Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformational Polymorphism) 法により行った。CDKN2 遺伝子プロモーター領域のメチル化の検索は、Southern Hybridization 法により行った。

### [成績]

1. (発現異常) p16<sup>INK4A</sup>, RB, p53 と cyclin D1 は、それぞれ18例 (46%), 8例 (21%), 10例 (25%) と 7例 (18%)

- で発現異常を認めた。非浸潤型胸腺腫16例と浸潤型胸腺腫、胸腺癌23例の2群に分けて発現異常の頻度を比較すると、p53, cyclin D1 では差が認められなかったが、正常では発現してくる p16<sup>INK4A</sup> と RB のいずれも発現したものが、非浸潤型では8例(50%)であったのに対し、浸潤型胸腺腫と胸腺癌では5例(22%)と有意に少なかった。
2. (遺伝子変異) p53 遺伝子と CDKN2 遺伝子の塩基配列異常を PCR-SSCP 法で検索すると、両者で, somatic mutation は認めず, CDKN2 遺伝子の exon 3 領域で polymorphism を5例に認めたのみであった。このことから, p53 と p16<sup>INK4A</sup> の発現異常には遺伝子変異による不活化は関与していないと思われた。
  3. (プロモーター領域のメチル化) 胸腺腫の4例と胸腺癌の1例にメチル化による CDKN2 遺伝子不活化を認めた。これらのうち, 1例を除き免疫組織染色で p16<sup>INK4A</sup> 発現異常を認めた。胸腺腫と胸腺癌で, p16<sup>INK4A</sup> の発現異常の一部には, 遺伝子のプロモーター領域のメチル化が関与していることが示唆された。

[総括]

1. 胸腺腫36例及び胸腺癌3例において, p16<sup>INK4A</sup>, pRB, p53, cyclin D1 の蛋白発現, p53 と CDKN2 遺伝子の塩基配列異常と CDKN2 遺伝子のプロモーター領域のメチル化について検討した。
2. p16<sup>INK4A</sup>, pRB, p53, cyclin D1 の蛋白発現異常はそれぞれ46%, 21%, 25%, 18%に認めた。これら蛋白群は G1/S 期の進行に関係することから, 胸腺腫, 胸腺癌の腫瘍発生へ何らかの関与をしていることが示唆された。
3. p53 と cyclin D1 の発現異常の頻度と臨床的進行度には有意な関連は認めなかったが, p16<sup>INK4A</sup>, pRB では浸潤型で発現異常の頻度が有意に高く, これらの経路は進行に関与していると思われた。
4. p53 と p16<sup>INK4A</sup> の発現異常には遺伝子変異による不活化は認めなかったが, p16<sup>INK4A</sup> の発現異常の一部には, CDKN2 遺伝子のメチル化による不活化が関与していることが示唆された。
5. 以上より, 胸腺腫, 胸腺癌においては, 今回検討した蛋白の発現異常と遺伝子異常の頻度は他臓器の悪性腫瘍に比し低いと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

G1/S 期に関係する癌抑制遺伝子 pRB (retinoblastoma protein), p16<sup>INK4A</sup>, p53 と癌遺伝子 cyclin D1 は, 種々の悪性腫瘍で発現異常や遺伝子異常が見いだされているが, これまで胸腺上皮より発生する胸腺腫及び胸腺癌について検討した報告は, ほとんどみられない。本研究では, p16<sup>INK4A</sup>, pRB, p53 と cyclin D1 が胸腺腫と胸腺癌の発生, 進行にいかに関与するかを明らかにする目的で, これら蛋白の発現異常の頻度を検索し, その発現頻度と臨床的進行度の関係を検討した。さらに p16<sup>INK4A</sup> と p53 の発現異常に関しては p16<sup>INK4A</sup> をコードする CDKN2 と p53 の遺伝子変異の検討を行い, p16<sup>INK4A</sup> の発現異常に関しては, CDKN2 遺伝子プロモーター領域のメチル化の関与についても検討した。

胸腺腫36例と胸腺癌3例の計39例を対象とし, 胸腺腫の非浸潤型16例を非浸潤型, 胸腺腫の浸潤型20例と胸腺癌3例を合わせ浸潤型として検討した。蛋白発現異常の検索では, p16<sup>INK4A</sup>, pRB, p53 と cyclin D1 で, それぞれ18例(46%), 8例(21%), 10例(25%), 7例(18%)で発現異常を認めた。非浸潤型と浸潤型の2群間で発現異常の頻度を比較すると, p53, cyclin D1 では差が認められなかったが, p16<sup>INK4A</sup> と pRB のいずれか片方に発現異常を認めたのが, 非浸潤型では8例(50%)に対し, 浸潤型は18例(78%)と有意に多く見られた。遺伝子変異の検索では, p53 と p16<sup>INK4A</sup> の発現異常には遺伝子変異による不活化は認めなかった。CDKN2 遺伝子プロモーター領域のメチル化は, 胸腺腫の4例と胸腺癌の1例に認め, これらのうち, 1例を除き免疫組織染色で p16<sup>INK4A</sup> 発現異常を認めた。

これら結果は, 胸腺腫と胸腺癌において, G1/S 期関連の癌抑制遺伝子産物の発現異常とその遺伝子異常及び癌遺伝子産物の過剰発現を示したもので, これらが胸腺上皮性腫瘍の発生と進行に関与することを示唆するもので, 学位に値すると考えられる。