Osaka University Knowledge Archive

Title	Expression of tumor suppressor gene p16INK4 products in primary gastric cancer
Author(s)	辻江, 正樹
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41848
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 13 】

氏　　名	辻　江　正　樹（つじ　え　まさ　き）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　15065　号
学位授与年月日	平成12年2月3日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科　外科系専攻
学 位 論 文 名	Expression of tumor suppressor gene p16^{INK4} products in primary gastric cancer （胃癌における癌抑制遺伝子 p16^{INK4} の発現）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授　門田　守人 （副査） 教 授　青笹　克之　　教 授　野口眞三郎

論 文 内 容 の 要 旨

[背景及び目的]

Cyclin、cyclin-dependent kinase（CDK）、CDK inhibitor など細胞周期のコントロールに関わる様々な因子の存在が明らかとなり、ヒトの癌でしばしばこれらの発現異常がみられることがわかってきた。p16遺伝子は染色体 9p21に存在し、その遺伝子産物 p16蛋白は細胞周期促進因子である CDK4、CDK6、cyclin D1 と結合することによって細胞周期を抑制すると考えられている。近年、ある種の CDK inhibitor は癌の進展に関与すること、p16蛋白の発現には promoter 領域の meythylation の有無や癌抑制遺伝子 Rb の発現状況が影響する場合があることが報告されている。胃癌では、p16遺伝子の変異や欠失は稀であることが知られているが、蛋白レベルの発現解析や、p16 promoter の methylation についての検討は未だ報告がない。本研究では、胃正常組織および胃癌組織において p16蛋白の発現を Western blot 法と免疫組織染色法により検討するとともに、p16遺伝子 promoter の methylation および Rb 蛋白発現が p16蛋白発現に与える影響を解析した。

[材料と方法]

1）p16蛋白を発現する HBL100乳腺上皮細胞、p16遺伝子が homozygous に欠失している T98G 神経膠芽腫細胞を用いて Western blot 法、免疫組織染色法による p16蛋白の検出を行い、p16抗体の特異性を確認した。胃癌組織における p16蛋白発現の検討には、1991年から1995年に手術により切除された80例の胃癌症例を対象とした。癌部と隣接非癌部を含む中性ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作成し、p16の免疫組織染色を行い、p16蛋白の発現頻度と臨床病理学的因子及び患者予後との関連性を解析した。

2）p16遺伝子の promoter 領域の methylation の検出には、20例の胃癌凍結組織から抽出した DNA を sodium bisulfite 処理した後、methylation 特異的 primer を用いて PCR 法にて検出した。

3）Rb 蛋白の免疫染色を行い、p16蛋白の発現と比較した。

[成績]

1）非腫瘍組織においては、p16蛋白は正常胃粘膜の腺頸部及び腺体部に、過形成粘膜においては腺底部に主として発

現しており、p16陽性細胞の頻度は10%以下であった。癌部においては0～100%の様々な頻度(mean：24.5±19.8%)でp16の発現が認められた。癌部でp16の発現を認めなかった症例は11.3%（9/80）であった。臨床病理学的因子との比較では、p16低発現群は低分化症との間に相関が認められた（p=0.0133)。p16発現の程度は患者の予後とは関連性を認めなかった。

2）胃癌組織20例のうち、promoter 領域に methylation を認めなかった群(n=9)では、p16蛋白の発現が全症例で認められたのに対し、promoter 領域に methylation を認めた群(n=11)では、2症例でp16の発現を全く認めなかった。両群でp16の平均陽性細胞率を算出すると、methylation を認めた群で有意にp16蛋白の発現低下を認めた（p=0.0013)。

3）Rb 蛋白とp16蛋白発現に関連性は認められなかった。

[総　括]　本研究は、胃癌におけるp16蛋白の発現と promoter 領域の methylation の状況についての最初の報告である。本研究によって、胃癌の約11%では免疫組織学的にp16蛋白の発現を認めないこと、p16蛋白の発現低下は低分化組織型と関連性があることが初めて明らかとなった。更に、p16遺伝子 promoter の methylation が、さまざまな程度に胃癌組織におけるp16蛋白の発現を抑制する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年、細胞周期制御に関わる因子の発現異常がヒトの癌でしばしばみられることがわかってきた。p16遺伝子は染色体9p21に存在し、その遺伝子産物p16蛋白は細胞周期促進因子であるCDK4/cyclin D1 と結合することによって細胞周期を負に抑制する。

本研究では、胃正常組織および胃癌組織80例においてp16蛋白の発現を免疫組織学的に検討するとともに、Rb (retinoblastoma)遺伝子発現、およびp16遺伝子 promoter 領域の methylation がp16蛋白発現に与える影響について検討した。

免疫組織染色では非腫瘍組織においては、p16染色陽性細胞の頻度は10%以下であったのに対し、癌部においては0～100%の様々な頻度（mean、24.5%）でp16の発現がみられた。癌部でp16の発現を認めなかった症例は11.3%（9/80）であった。臨床病理学的因子との比較において、p16非発現群では低分化型癌との間に相関が認められた（p<0.02)。癌部での Rb 蛋白発現とp16蛋白発現の間には関連性を認めなかった。

胃癌組織20例より抽出した DNA を用いてp16　promoter 領域の methylation を PCR 法で解析したところ、methylation を認めなかった9例ではp16蛋白の発現が全症例で認められたのに対し、methylation を認めた11例のうち2症例でp16の発現を全く認めなかった。両群でp16の平均陽性細胞率を算出すると、methylation を認めた群で有意にp16蛋白の発現低下を認めた（p<0.002)。

この研究によって、胃癌組織におけるp16蛋白発現と細胞分化との関連性が示唆された。更に、胃癌組織においてp16遺伝子 promoter 領域の methylation が高頻度(55%)にみられることが初めて明らかとなり、p16の発現を認めない胃癌症例では、promoter 領域の methylation がp16蛋白発現抑制に関与する可能性が示され、本研究は学位に値する業績と考える。