



Title	Gene mutations analysis in the Prostatic intraepithelial neoplasia and Concurrent Carcinoma by using laser capture microdissection method
Author(s)	高山, 仁志
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43797
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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	高 山 仁 志
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 16848 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Gene mutations analysis in the Prostatic intraepithelial neoplasia and Concurrent Carcinoma by using laser capture microdissection method (Laser Capture Microdissection (LCM) 法を用いた Prostatic Intraepithelial neoplasia (PIN) と Prostatic carcinoma (PCA) における遺伝子異常の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 青笹 克之 (副査) 教授 北村 幸彦 教授 奥山 明彦

論文内容の要旨

【目的】

Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) は、腺管上皮が管腔内へ向かい増殖・重層化する病変である。細胞異型に基づき high grade (HGPIN) と low grade に分類され、HGPIN は(1)prostatic carcinoma (PCA) に近接してみられること、(2)oncogene の発現、ヘテロ接合性の消失、などの PCA と共通した特徴が観察されることから、欧米においては、前癌病変と推定されてきた。当教室の疫学調査により本邦でも HGPIN が前癌病変であることを示したが、遺伝子異常についての知見はきわめて乏しい。その理由は PIN は顕微鏡レベルで認識できる病変であることである。そこで、HGPIN と PCA との関連をより分子生物学的に検討するために、Laser capture microdissection (LCM) 法を用いて、PIN における *p53* および *Fas* 遺伝子の異常を検討した。

【材料と方法】

前立腺全摘標本のうち HGPIN と PCA の共存する27例を対象にした。パラフィンブロックから、LCM 法を用いて PCA およびその近傍に認められた HGPIN 病変を採取し、DNA を抽出した。*p53* 遺伝子の exon5-8 の領域について PCR-SSCP 法による screening を行い、変異の認められた病変については direct sequencing により、塩基配列を解析した。また、*Fas* 遺伝子の exon7-9 の領域について direct sequencing を行い、変異の疑われた病変については sub-cloning により解析した。

【結果】

PCA では27例のうち8例 (29.6%)、HGPIN では6例 (22.2%) に、*p53* 遺伝子変異を認めた。PCA では Transition zone (TZ) の25病変中1病変 (4%) に、non-TZ の30病変中10病変 (33.3%) に変異を認めた ($p < 0.05$)。PCA から2 mm 以内の HGPIN では46病変中11病変 (23.9%) に、2 mm 以上では65病変中2病変 (3%) に変異を認めた ($p < 0.05$)。*Fas* 遺伝子変異については、PCA 病変では認められず、HGPIN 27例のうち4例 (14.8%) に認めた。変異の内訳は、missense mutation 3件、nonsense mutation 1件であった。変異のパターンとしては、G to A transition が75%と最も多かった。

【考察】

(1)HGPIN にすでに *p53* 遺伝子異常が生じていることが明らかになった。(2)共存する HGPIN と PCA の変異パターンの異同についても検討したところ、異なるものが大部分であることから HGPIN は多中心性に発生すると考えられた。(3)PCA から 2 mm 以内に近接する HGPIN および non-TZ に存在する HGPIN は、*p53* 変異が PCA と近似したパターンを示すことから前癌病変と考えられた。(4)HGPIN には頻度は少ないものの、*Fas* 遺伝子変異が認められた。一方 PCA では *Fas* 遺伝子変異が認められないことから、PCA は *Fas* 遺伝子変異のない HGPIN から発生してくることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

Prostatic cancer (PCA) はアメリカにおいて発生頻度は高く、男性の死亡原因の 2 位である。日本においてもアメリカにおけるほど高い頻度ではないが、近年明らかな増加傾向がみられ、構成人口の高齢化とともに社会的に重要な癌の 1 つである。PCA の予防、診断、治療を考える上で前癌病変である High-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) の性状を明らかにすることは重要である。しかし、HGPIN の遺伝子異常についての知見はきわめて乏しい。その理由は PIN は顕微鏡レベルで認識できる病変であることである。

本研究は、Laser Capture Microdissection (LCM) 法を用いて、多数の PCA および HGPIN 病変を各々独立して採取し、*p53* および *Fas* 遺伝子の異常を検討した。

前立腺全摘標本のうち HGPIN と PCA の共存する 27 例を対象にした。LCM 法を用いて PCA および HGPIN 病変を採取し、DNA を抽出し、*p53* 遺伝子の exon 5-8 の領域について PCR-SSCP 法および direct sequencing により、塩基配列を解析した。また、*Fas* 遺伝子の exon 7-9 の領域について direct sequencing および sub-cloning により解析した。

PCA では 27 例のうち 8 例 (29.6%)、HGPIN では 6 例 (22.2%) に、*p53* 遺伝子変異を認めた。PCA では transition zone (TZ) の 25 病変中 1 病変 (4%) に、non-TZ の 30 病変中 10 病変 (33.3%) に変異を認めた ($p < 0.05$)。PCA から 2 mm 以内の HGPIN では 46 病変中 11 病変 (23.9%) に、2 mm 以上では 65 病変中 2 病変 (3%) に変異を認めた ($p < 0.05$)。*Fas* 遺伝子変異については、PCA 病変では認められず、HGPIN 27 例のうち 4 例 (14.8%) に認めた。

(1) HGPIN にすでに *p53* 遺伝子異常が生じていることが明らかになった。(2) HGPIN は多中心性に発生すると考えられた。(3) PCA から 2 mm 以内に近接する HGPIN および non-TZ に存在する HGPIN は、前癌病変と考えられた。(4) HGPIN には頻度は少ないものの、*Fas* 遺伝子変異が認められた。この結果から分子生物学的にも HGPIN が前癌病変であることが示された。

以上より、本論文は学位授与に値すると考えられる。