

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、 〈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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

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 1 6 8 4 8 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。