Osaka University Knowledge Archive

Title	Gene mutation analysis in the prostate cancer (PCa) and its possible precursor by using laser capture microdissection method
Author(s)	辻本, 裕一
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45233
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

氏　　名	辻　本　裕　一（つじ もと ゆう いち）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４７５　号
学位授与年月日	平成 16 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 mutation analysis in the prostate cancer (PCa) and its possible precursor by using laser capture microdissection method (Laser Capture Microdissection 法を用いた前立腺癌とその前癌病変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　野口眞三郎　　教　授　奥山　明彦

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】前立腺癌の頻度はアメリカでは高く、男性においては癌死の第２位に相当する。日本では第７位と頻度は高くなかったが、最近 20 年間で約４倍の増加をみ、今後高齢化や食生活の欧米化に伴って更に増加が予想されることから適切な予防、診断、治療法の確立が急務である。そのような対策を講じる上で前癌病変の認識は重要である。Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) は腺上皮が管腔内へ乳頭状に増殖・重層化する病変で、細胞異型に応じて low と high grade に分類される。欧米では high grade PIN (HGPIN) が前癌病変と考えられていて、当教室でも前癌病変と支持する報告をしてきた。Postatrophic hyperplasia (PAH) とは中心にある大型導管の周囲に小型の萎縮腺管が密集、集族する病変で、形態学的に癌に類似する。①増殖能が亢進している、②Non-transition zone に好発する、③８番染色体セントロメアの増加がみられることから前癌病変の一種とする考えもあるが異論もあるところである。

本研究では摘出された前立腺癌材料の全割標本を用いて病理組織学的に検討を加え、更には癌抑制遺伝子である *p53* 遺伝子変異や、アンドロゲンレセプター (AR) の CAG repeat 数を調べた。CAG repeat 数が短いと AR の転写活性が亢進し、細胞増殖能が亢進することが in vitro で示されている。疫学調査では repeat 数の短いアメリカの黒人では前立腺癌の頻度の高いことが末梢血白血球での疫学検討により報告されている。

【方法】術前のホルモン療法なしで前立腺全摘術を施行された 28 症例の前立腺癌を対象とした。ホルマリン固定し、パラフィン包埋した標本を用いて HE 染色、ABC 法による免疫染色を行なった。抗体は基底細胞の有無を明らかにする high molecular weight cytokeratin (HMWC) と増殖能の指標となる Ki-67 (MIB-1) を使用した。Laser capture microdissection により病変部より選択的に採取された材料より DNA を抽出し、PCR-SSCP 法にて *p53* 遺伝子変異を、また PCR 後の泳動にて CAG repeat 数の短縮を検討した。

【成績】PAH は 28 例中７例 (25%) に存在した。PAH の有無と相関する臨床上のパラメーター（年齢、PSA、前立腺重量、腫瘍最大径、Gleason score、ステージ）はなかった。基底細胞の有無をみる HMWC 染色では PCa で欠損、HGPIN で断片状、PAH で連続であり、PAH では基底細胞が保持されていることから癌との鑑別は困難ではな

かった。増殖能の指標である Ki-67（MIB-1）陽性細胞数は PAH では PCa や HGPIN より少なかったが、非腫瘍性腺上皮より多い傾向がみられた。

p53 遺伝子変異は PAH5 例中 1 例（20.0%）、38 病変中 2 病変（5.3%）に exon8 の point mutation がみられた。一つは hot spot であるコドン 273 の missense 変異で、もう一つはコドン 274 の silent 変異であった。病変別では非腫瘍性腺上皮には *p53* 遺伝子変異はなく、PAH では 5.3% と PCa（31.3%）よりも少なく、HGPIN（4.2%）と同程度であった。

CAG repeat の短縮は PCa、HGPIN、PAH にみられたが、非腫瘍性腺上皮にはみられなかった。その頻度（case、lesion）は[Pca(8.8%、3.4%)]＜[HGPIN(17.6%、8.0%)]＜[PAH(30.0%、16.7%)]の順であった。

【総括】従来、PAH と癌との関連については様々な意見があったが、PAH は①増殖能は PCa や HGPIN より低いが、非腫瘍性腺上皮より高い傾向がみられたこと、②*p53* 遺伝子変異が PCa より低頻度であるが、HGPIN と同程度であること、③CAG repeat の短縮が PCa や HGPIN より高頻度であることなど非腫瘍性病変よりも PCa や HGPIN と類似した性質をもつことから、PAH が前癌病変であることを支持する結果であった。

論文審査の結果の要旨

前立腺癌（PCa）による癌死の頻度はかつてはアメリカに比べて日本では低い状態にあったが、最近 20 年間で約 4 倍増加し、今後更に増加が予想される。前立腺癌の予防、診断、治療の対策を講じる上で前癌病変である high grade prostatic intraepithelial neoplasia（HGPIN）や postatrophic hyperplasia（PAH）の性状解明が重要である。本研究ではホルモン未施行で摘出された 28 例の前立腺癌材料の全割標本を用いて PCa と PAH の関連を病理組織学的に検討し、更には癌抑制遺伝子である *p53* 遺伝子変異や、アンドロゲンレセプター（AR）の CAG repeat 数の比較を行った。

パラフィン包埋された標本を HE 染色と ABC 法による免疫染色を行なった。抗体は増殖能の指標となる Ki-67（MIB-1）を使用した。Laser capture microdissection 法を用いて病変部から顕微鏡レベルで選択的に採取された材料の DNA を抽出し、PCR-SSCP 法にて *p53* 遺伝子変異を、また PCR 後の泳動にて CAG repeat 数の短縮を検討した。

PAH は 28 例中 7 例（25%）に存在し、PAH の有無と相関する臨床病理学的因子は存在しなかった。Ki-67（MIB-1）による免疫組織学的検討では PAH の増殖能は PCa や HGPIN より低いが、非腫瘍性腺上皮より亢進していた。非腫瘍性腺上皮にはみられなかった *p53* 遺伝子変異は PAH（5.3%）は PCa（31.3%）よりも低頻度であったが、HGPIN（4.2%）と同程度であった。非腫瘍性腺上皮にはみられなかった CAG repeat の短縮は PAH（16.7%）が PCa（3.4%）や HGPIN（8.0%）より高頻度であった。

以上より PAH は(1)PAH は非腫瘍性腺上皮より高い増殖能を有することや(2)PAH にはすでに *p53* 遺伝子異常や CAG repeat の短縮が生じていることが明らかとなり、PAH の前癌病変としての性格を支持するものであり、前立腺癌への対策上、有意義な知見を得た。

以上より本論文は学位授与に値すると考えられる。