

Title	PIK3CA gene mutations and amplifications in uterine cancers, identified by methods that avoid confounding by PIK3CA pseudogene sequences
Author(s)	三宅, 貴仁
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48906
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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 ^み三 ^{やけ}宅 ^{たか}貴 ^{ひと}仁

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 2 1 8 5 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 20 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科臓器制御医学専攻

学 位 論 文 名 *PIK3CA* gene mutations and amplifications in uterine cancers, identified by methods that avoid confounding by *PIK3CA* pseudogene sequences
(子宮悪性腫瘍における *PIK3CA* 遺伝子変異及び増幅の検討)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 木村 正

(副査)
教 授 青笹 克之 教 授 野口眞三郎

論 文 内 容 の 要 旨

{目的}

PIK3CA は PI3Ks (Phosphatidylinositol 3-kinases) の α -catalytic subunit をコードする遺伝子であり、3 番染色体上に存在している。PI3Ks の活性を制御することにより腫瘍発生、進展に関与すると考えられている。近年様々な腫瘍において *PIK3CA* の変異のホットスポットである Exon 9 と Exon 20 における遺伝子変異が報告されており、これらの変異が PI3K の活性を亢進し組織の癌化を誘導することが示されている。また、ヒト癌において 3 番染色体長腕は高頻度に遺伝子増幅が起きていることが以前より報告されており、同領域に存在する *PIK3CA* 遺伝子の増幅も子宮頸癌において高頻度に認められたとの報告もある。我々は子宮の悪性腫瘍と *PIK3CA* 遺伝子変異、増幅との関連を調べるため、臨床検体を用い検討した。

{方法ならびに成績}

当科にて手術施行された症例のうち同意を得られたもの、子宮頸癌 22 例、子宮体癌 29 例を対象とした。摘出した組織から DNA を抽出し以下の実験に用いた。

1 DNA sequencing

採取した DNA を Polymerase chain reaction (PCR) 法を用い増幅、続いて Exon 9、Exon 20 に特異的に設計した Primer を用いダイレクトシーケンス法にて遺伝子配列を決定した。

子宮頸癌では 22 例中 3 例 (14%) に遺伝子変異を認め、その全ては Exon 9 に存在していた。子宮体癌では 29 例中 3 例 (10%) に遺伝子変異を認めた。これらは全て Exon 20 に存在していた。どちらも組織型、進行期と遺伝子変異の有無に関連を認めなかった。

2 *PIK3CA* copy number quantification

採取した DNA を用い、Real-time PCR 法にて測定した。*PIK3CA* 遺伝子に特異的に設計した Primer を用い、Real-time PCR にて測定、Glucokinase (GCK) 遺伝子を内因性コントロールとして用い、*GCK* の Ct 値と *PIK3CA* の Ct 値の差 (Δ Ct 値) を用い比較した。

Δ Ct 値 3 以上を有意な増幅とし比較したところ、子宮頸癌では 22 例中 2 例 (9%) に、子宮体癌では 29 例中 4

例（14％）に遺伝子増幅を認めた。子宮頸癌で遺伝子増幅を認めた2例のうち1例で遺伝子変異を認めた。子宮体癌で遺伝子増幅を認めた4例のうち遺伝子変異を認めたのは1例であった。

{総括}

種々の悪性腫瘍において *PIK3CA* 遺伝子変異が報告されており、婦人科悪性腫瘍においても卵巣癌、子宮体癌での *PIK3CA* 遺伝子変異が報告されている。また、22 番染色体長腕上に *PIK3CA* 遺伝子と類似した配列（偽遺伝子）が存在しており、これまでの報告は偽遺伝子を遺伝子変異として検出している可能性も考えられた。このため我々は第3染色体に特異的なプライマーを使用することで *PIK3CA* 遺伝子配列の検討を行った。この結果、従来報告されている頻度と比べ、子宮頸癌、体癌での *PIK3CA* 遺伝子変異は少ないものであった。

また、遺伝子増幅においても従来の報告と比べて頻度が少ない結果となった。これは他の報告で用いられている Comparative genomic hybridization (CGH) 法と我々が用いた Real-time PCR 法との違いによる可能性や、偽遺伝子の検出をしている可能性が考えられた。

子宮頸癌、体癌での遺伝子変異、増幅の頻度は従来に比べ低い結果となったが、子宮頸癌、体癌で変異の部位に違いを認める事等より、異なった機序による癌化に関与している可能性が考えられる。この仮説、機序について解明するため、今後さらなる検討が必要と考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、子宮悪性腫瘍（子宮頸癌、子宮体癌）における *PIK3CA* 遺伝子変異および増幅について、ダイレクトシークエンス法、リアルタイム PCR 法を用いて検討した。

細胞のアポトーシスや細胞増殖を制御する経路として PI3K/AKT 経路が知られている。この PI3K/AKT 経路を制御する分子として PI3K と PTEN が知られており、種々の腫瘍において PTEN の遺伝子変異が報告されている。本研究では PTEN と拮抗する PI3K に着目し、PI3K の α catalytic subunit をコードする遺伝子、*PIK3CA* の変異や増幅の頻度について検討した。また、*PIK3CA* と類似した配列の 22 番染色体上に存在する偽遺伝子の存在が知られており、偽遺伝子の検出を避けるために特異的なプライマーを設計し実験に用いた。この結果、遺伝子変異の頻度は従来の報告より低い結果であったが、変異もしくは増幅を認める症例は全体の 20%程度であり、子宮悪性腫瘍の発生に関与している可能性が考えられた。

これらの研究成果は、今後婦人科悪性腫瘍における発癌機序の検索において重要なものであり、学位に値するものとする。