

氏 名	きん ぎ せん 金 義 宣
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1897 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	p53 mutation and protein overexpression in the early stages of esophageal tumorigenesis utilizing endoscopically obtained biopsy specimens (内視鏡生検検体を用いた食道早期腫瘍形成における p53 遺伝子変 異および蛋白過剰発現の検討)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 今 村 正 之 教 授 大 熊 稔

論 文 内 容 の 要 旨

近年、癌の発生、進展には様々な癌遺伝子、癌抑制遺伝子の段階的な異常が関わっていることが明らかにされている。なかでも癌抑制遺伝子 p53 は、食道癌、大腸癌、肺癌など多くの悪性腫瘍でその異常が報告されている。食道癌では、食道前癌病変と目される高度食道異形成の段階で、すでに p53 遺伝子の異常（ヘテロ接合性の消失：LOH）を認めるという報告があるが、特に軽度異形成における p53 遺伝子変異については、その変異スペクトラムを含めて詳細な検討はなされていない。今回、異型の軽度な食道上皮性病変に主眼をおき、p53 遺伝子変異、変異蛋白の異常蓄積、変異スペクトラム、および病理組織診断と p53 異常の関連について解析した。対象は、京大病院内視鏡室で内視鏡下に採取され、臨床病理医により細胞、組織異型を有するとされた生検標本の、ホルマリン固定パラフィンブロックを用いた。病変の部位、性状確認のためヨード撒布を併用した。解析方法は、薄切切片の異型細胞より DNA を抽出し、エクソン5-8についてPCR-SSCP法で変異をスクリーニングした。シフトしたバンドを切り出し、再度PCRを行い、精製後ダイデオキシ法により変異を確認した。また同様の薄切切片をマイクロウェーブ処理後、ABC法で免疫染色し、染色強度を（+++）～（-）で表記した。解析した86病変を、浸潤癌12例、上皮内癌または高度異形成6例、中等度異形成15例、軽度異形成27例、反応性過形成22例、および正常上皮4例と病理診断した。過形成は、細胞異型を基底細胞層近傍に局限して認めるものの、腫瘍性病変とは診断しえないものとした。免疫染色では、p53蛋白は核に局限して染色された。浸潤癌は、6例全例が中等度以上（ $\geq$ ++）に染色された。過形成では、染色された検体の2/3が軽度陽性であったのに対し、軽度および中等度異形成では、23/42（55%）が中等度以上陽性（ $\geq$ ++）であった。但し、軽度異型上皮と過形成において、各染色強度を示す病変数の分布には有意差はなかった（ $p=0.338$, χ^2 test）。PCR-SSCPでは、42病変でバンドのシフトを認めた。23例の点変異のうち17例がミスセンス変異で、うち免疫染色した13例中11例が中等度以上陽性であった。ナンセンス変異を検出したうち、免疫染色陽性細

胞を認めた1例については、同時にミスセンス変異を検出しており、ひとつの生検検体に2つの異なったp53異常をもったクローンが存在したと判断した。変異スペクトラムでは、CpG部位以外でのG→A transitionとA→G transitionが優位で(30.4%)、肺癌で多いG→T transversionが少なく、従来の食道浸潤癌における報告と一致した。p53遺伝子変異は、軽度および中等度異形成においても19/42(45.2%)に検出され、これは過形成における変異率より有意に高かった($p=0.008$, χ^2 test)。高度異形成、上皮内癌、浸潤癌などの高度異型病変では72.2%にp53遺伝子変異を認めた。今回、内視鏡下にヨード撤布を併用し、部位確認を行ったことで、同一病変の経時的観察が可能な例があった。内視鏡的に同一部位で、かつ同一の変異を検出した異形成6例では、p53遺伝子の異常にもかかわらず、上皮下浸潤、腫瘍の増大などはなかった。以上より、p53遺伝子変異は、LOHが報告されている高度異型上皮よりさらに早期の、軽度異型上皮の段階ですでに約半数が変異し、食道上皮における腫瘍の発生およびクローンの細胞増殖に関わっていると考えられるが、そのみで、爆発的な増殖、上皮下への浸潤などの悪性形質を獲得するには至らないことが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、食道癌の早期腫瘍形成における癌抑制遺伝子p53異常の関与を解明するため、内視鏡下に採取され、細胞および組織異型を有すると病理診断された生検標本薄切切片を用いて、各組織異型度におけるp53遺伝子変異、p53蛋白の染色性およびp53変異スペクトラムについて検討したものである。

PCR-SSCP法による遺伝子変異の解析では、軽度および中等度異形成の段階で、すでに19/42(45.2%)に変異がみられ、これは非腫瘍性として診断した基底細胞過形成より有意に高率であった。高度異形成、上皮内癌および浸潤癌では13/18(72.2%)に変異を認めた。

経時的に生検検体を得た、軽度および中等度異形成6例では、平均73週の観察で腫瘍の増大、上皮下への浸潤をともに認めなかったことより、食道早期腫瘍形成において、p53遺伝子変異は、腫瘍細胞の緩やかなクローン性増殖には関わるが、そのみで顕著な増殖能や浸潤能などの悪性形質を獲得し得ないことが示された。

以上の研究は、食道早期腫瘍形成における遺伝子異常の意義の解明に貢献し、食道腫瘍の早期診断および適切な治療決定法の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成9年2月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。