

第18回上信越神経病理懇談会記録

日時 平成4(1992)年11月21日(土)

場所 新潟大学医学部第1実習室

御挨拶 生田 房 弘(新潟大学脳研究所 実験神経病理学部門)

1975年の水上に始まった第1回から、17年が過ぎ、私共はここに第18回懇談会を迎えることができました。

目まぐるしく学問研究の手技が変動する中で、一部御遠慮戴く程、各地から多数の演題申込を戴き、ここに16題を勉強出来ますことは誠に喜ばしいことであります。

しかも、自由に活発に意見を交換し合うという当初の

心は今も変ることなく、次々に若い研究者がこの会に参加されつつありますことは、何よりも嬉しい限りであります。

明年は信州大学のお世話で、第19回が松本で開催戴けることとなりました。感謝申しあげ、皆でその日を楽しみに参りましょう。

1. 頭蓋内 germ cell tumor におけるがん抑制遺伝子 p53 の変異の検索

馮 雪蓮, 張 淑靖, 古閑比佐志, 市川 富夫
阿部 聡, 鷺山 和雄, 熊西 敏郎
新潟大学脳研究所神経病理

目的: 頭蓋内 germ cell tumor におけるがん抑制遺伝子 p53 の変異の有無を知る目的で PCR-SSCP 法及び Sequencing 法を行った。

方法: 頭蓋内 germ cell tumor 7例(病理診断: germinoma 2例, 広義 embryonal carcinoma 4例, immature teratoma with embryonal carcinoma 1例, 年齢: 6才~19才, 1例 40才, 性: 男 6例, 女 1例) から DNA を Goelz らの方法に準じて paraffin 切片から抽出, 精製した。対照には胎盤 DNA を用いた。p53 遺伝子の検索は Exon 5 から 8 までを対象とし, それぞれの Exon の隣接 Intron 内に primer を設定し, PCR にて増幅後, SSCP を行った。SSCP 検索によって, band の移動度の変化が認められた症例は dideoxy 法で Sequence analysis を行った。

結果: 7例中2例(embryonal carcinoma, germinoma)では SSCP 法で band の移動度の変化が Exon 5 に, また2例(embryonal carcinoma)では Exon 6 に認

められた。それぞれで塩基配列の変化も確認された(表)。さらにこれらの内の3例の embryonal carcinoma では Exon 8 にも変化が推定された。

まとめ: PCR-SSCP と Sequencing 法の検索結果から, 頭蓋内 germ cell tumor の発癌には p53 の遺伝子の変異が深く関与するものと思われた。

【質問】

中島 孝(群大第二病理) ① P-53 immunohistochemistry の結果は SSCP の結果と一致していたでしょうか?

② primer の design は独自に行ったものか, それとも国立がんセンターの方法と同じか?

【解答】

馮 雪蓮(新大脳研神病) ① 免疫染色は行いましたが, 剖検例であるために固定時間が長いといずれの

表

症例	PCR-SSCP				塩基変異			アミノ酸置換
	E5	E6	E7	E8	codon	(Exon)	nt	
F1	-	-	-	-				
F2	-	+	-	+	ND	intron 5 (8)	AG→AA	(splice signal の変化)
F3	-	-	-	-				
F4	+	-	-	-	164	(5)	AAG→AGG	Lys→Arg
F5	+	-	-	+	176 ND	(5) (8)	TGC→TTC	Cys→Phe
F6	-	+	-	+	ND	intron 5 (8)	AG→AA	(splice signal の変化)
F7	-	-	-	-				

F1: immature teratoma with embryonal carcinoma,
 F2, 3, 5, 6: embryonal carcinoma, F4, 7: germinoma
 +: 移動度の変化が認められたもの
 -: 移動度の変化が認められなかったもの
 ND: 検索中

症例でも明白な結果は得られませんでしたので SSCP との対応性の検討はできませんでした。

② primer は国立がんセンターの配列を参考にして作製致しました。

2. 若年発症 glioma における p53 遺伝子突然変異の解析

張 淑靖, 馮 雪蓮, 古閑比佐志, 市川 富夫
 阿部 聰, 熊西 敏郎
 新潟大学脳研究所神経病理

近年、種々のヒトのがんにおいて、がん抑制遺伝子 p53 の変異が高頻度に見られることが次第に明らかになりつつある。我々は、種々の脳腫瘍の p53 遺伝子変異の検索を進めつつあり、glioma では、その約30%以上に変異を検出しているが、本研究では若年発症例（5歳～21歳）6例、成人例（32歳～48歳）3例を対象に p53 遺伝子の解析を PCR-SSCP 法を用いて行った。

病理診断は、いずれも anaplastic glioma であった。DNA の抽出は Goelz 等の方法に準じて paraffin 切片から行った。対象には正常大脳切片の DNA と placental DNA (生組織) を用いた。Primer を p53 遺伝子の高度保存領域である Exon 5, 6, 7, 8 の外側の Intron 内に設定し、PCR-SSCP 法を行った。PCR-SSCP 上移動度の変化が認められた例では dideoxy 法で sequence analysis を行った。

その結果、成人例3例中1例に PCR-SSCP 上移動度の異なる band が Exon 5 に認められた。他の1例では Exon 8 に変化が推定された。若年例6例中2例では Exon 5 に、他の1例では Exon 6 に変化が測定された。これらのうち成人例1例、若年例2例では塩基配列の変化を確認した(表)。

以上、比較的少数の検索例数ではあるが、若年発症 glioma にも p53 遺伝子変異の関与が示唆された。

〔質問〕

中里洋一(群大第一病理) ホルマリン固定パラフィン包埋の組織から DNA を抽出した場合、PCR-SSCP で陰性となった例は p53 遺伝子の mutation がないと考えてよろしいでしょうか。