

	ながはし まさゆき
氏 名	永橋 昌幸
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第225号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Genetic changes of p53, K-ras, and microsatellite instability in gallbladder carcinoma in high-incidence areas of Japan and Hungary (日本・ハンガリーにおける胆嚢癌の p53, K-ras 遺伝子変異, およびマイクロサテライト不安定性について)
論文審査委員	主査 教授 青柳 豊 副査 教授 畠山 勝義 副査 教授 味岡 洋一

博士論文の要旨

【背景】近年の分子生物学の進歩は目覚ましく、腫瘍分子病理学の分野でも、大腸癌、膵癌、乳癌等で著しい成果があげられているが、胆嚢癌の発癌過程における遺伝子変異については未だにわずかのことしか分かっていない。胆嚢癌の好発地域として、南米、東ヨーロッパ、北インド、日本が挙げられ、胆嚢癌の発生率は地理的・民族的な多様性を示すことが疫学研究により明らかにされてきた。このような著しい地域差は、遺伝的因子と環境因子が組み合わさって胆嚢癌の発生に関与していることから生じていると想定され、共同研究者である横山は、以前に胆嚢癌の世界的好発地域である日本とチリの胆嚢癌の p53 遺伝子変異の形式に違いがみられることについて報告したが、このような地域による胆嚢癌の遺伝子変異の違いについての研究は未だごく少数の報告があるのみである。

【目的】本研究の目的は、胆嚢癌の好発地域である日本とハンガリーにおいて、胆嚢癌の遺伝子変異を解析し、地域による相違を明らかにすることにある。

【対象と方法】対象は新潟大学及び関連施設で切除された胆嚢癌 22 例（日本症例）、およびハンガリー・ブダペスト市内の病院で切除された胆嚢癌 20 例（ハンガリー症例）の計 42 切除例とした。ハンガリー症例については、ハンガリー国立がんセンターの腫瘍専門医 Istvan Lang 先生と外科病理医 Zoltan Szentirmay 先生の協力により材料を得た。標本をホルマリン固定し、パラフィン包埋切片から microdissection により DNA を抽出、p53 遺伝子変異、K-ras 遺伝子変異、マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability : MSI) を解析した。p53 遺伝子変 (exon 5-8) と K-ras 遺伝子変異 (codon 12) は Direct sequence 法で検索した。MSI は BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, D17S250 の 5 つの蛍光抗体でラベルされたマイクロサテライトマーカーを用いて検索し、2 つ以上のマーカーで不安定性が認められたものを MSI-high とし、1 つのマーカーのみで不安定性が認められたものを MSI-low、いずれのマーカーでも不安定性が認められなかったものを MSI-none と判定した。胆嚢癌の病理組織学的所見は TNM 分類にしたがって記載した。遺伝子変異の頻度をフィッシャー正確確率検定を用いて比較し、両側検定で $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。

【結果】 p53 遺伝子変異を日本症例 22 例中 11 例 (50.0%) に認め、ハンガリー症例 18 例中 6 例 (33.3%) に認めた ($P = 0.348$)。17 例の変異陽性例のうち、transversion を日本症例の 11 例中 4 例に、ハンガリー症例の 6 例中 1 例に認め、CpG site での transition を日本症例の 11 例中 0 例に、ハンガリー症例の 6 例中 2 例に認めた ($P = 0.110$)。K-ras 遺伝子変異は日本症例には認められず、ハンガリー症例の 1 例のみに認めた。MSI については、MSI-high を日本症例の 19 例中 8 例 (42.1%) に認めたのに対し、ハンガリー症例では 15 例中 1 例 (6.7%) に認めたのみであった ($P = 0.047$)。

【考察】 p53 遺伝子変異形式には transition と transversion の 2 種類があるが、これらは癌の変異原とある程度相関すると言われる。すなわち、transition は遺伝素因などの内因性の発癌を示唆し、特に transition は CpG site でよく認められる。一方、transversion は発癌物質などが関与する外因性の発癌を示唆する。本研究の結果では、日本・ハンガリーの両国間で p53 遺伝子変異の頻度に差はなかったが、その変異形式に関しては、日本症例では外因性発癌を示唆する transversion が多く、ハンガリー症例では内因性発癌を示唆する CpG site での transition が多い傾向がみられた。K-ras 遺伝子変異は一般には膵胆管合流異常症を合併した胆嚢癌で高頻度に認められるが、両国ともに膵胆管合流異常症合併症例は含まれておらず、K-ras 遺伝子変異はハンガリー症例 1 例に認められたのみであった。膵胆管合流異常を伴わない胆嚢癌発癌においては K-ras 遺伝子の関与は小さいと考えられた。MSI は DNA ミスマッチ修復遺伝子の異常によって生じ、遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) で見られる頻度が高いが、その他の癌でも HNPCC の合併による遺伝的要因や、環境因子によって生じることがある。日本症例ではハンガリー症例と比べて MSI-high の頻度が有意に多く、HNPCC の合併例はなかったことを考慮すると、その発癌過程において、環境因子の影響が示唆される結果であった。

【結論】 日本・ハンガリー両国間で p53 遺伝子の変異形式や MSI の頻度に違いが見られた。胆嚢癌は遺伝子変異においても地理的・民族的多様性が存在すると考えられる。

(論文審査の要旨)

本研究では胆嚢癌好発地域である日本とハンガリーの遺伝子変異の地域差を明らかにする事を目的とした。

対象は日本症例 22 例、ハンガリー症例 20 例の計 42 例とした。p53, K-ras 遺伝子変異, マイクロサテライト不安定性 (MSI) を解析した。MSI は 5 種のマーカーを用い、MSI-high (高頻度), MSI-low (低頻度), MSI-none (無し) に分類した。

p53 変異を日本例 22 例中 11 例 (50.0%), ハンガリー例 18 例中 6 例 (33.3%) に認めた ($P = 0.348$)。変異 17 例のうち、transversion を日本例の 11 例中 4 例に、ハンガリー例の 6 例中 1 例に認め、transition を日本例の 11 例中 0 例に、ハンガリー例の 6 例中 2 例に認めた ($P = 0.110$)。また、MSI-high を日本症例の 19 例中 8 例 (42.1%) に認めたのに対し、ハンガリー症例では 15 例中 1 例 (6.7%) のみであった ($P = 0.047$)。

p53 遺伝子変異形として、日本症例では外因性発癌を示唆する transversion が多く、ハンガリー症例では内因性発癌を示唆する transition が多い傾向がみられた。さらに、日本症例では MSI-high の頻度が有意に多く、HNPCC の合併例が無いことより、その発癌過程において、環境因子の影響が大きいことが示唆される結果であった。

以上本研究においては、日本・ハンガリー両国間の胆嚢癌で遺伝子変異の地理的・民族的多様性が存在する可能性を示したもので、この点に学位論文としての価値を認める。