

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 佐々木 太郎
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 634 号
学位授与の日付 平成 27 年 3 月 23 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 Real-time polymerase chain reaction analysis of MDM2 and CDK4 expression using total RNA from core-needle biopsies is useful for diagnosing adipocytic tumors (脂肪系腫瘍に対する針生検での微量検体 RNA を用いた real-time PCR による MDM2 と CDK4 遺伝子の発現解析)
論文審査委員 主査 教授 柴田 実
副査 教授 遠藤 直人
副査 教授 味岡 洋一

博士論文の要旨

【背景と目的】脂肪系腫瘍は組織学的診断上、良悪性の鑑別が困難な症例が多く、これまでに腫瘍特異的な染色体異常や転座、その結果として生じる遺伝子発現の異常が鑑別の手がかりとなることが報告されている。良性の脂肪腫では全体の約 60% に染色体異常がみられ、12q13-15 の異常が最も多く、HMGA2 融合遺伝子が検出される。一方、悪性の高分化型脂肪肉腫や脱分化型脂肪肉腫では ring / giant chromosome がみられ、MDM2、CDK4 遺伝子の増幅が認められる。高分化型脂肪肉腫の鑑別に免疫染色による MDM2、CDK4 の高発現が有用であると報告があるが、免疫染色では定量評価が難しいため、その判定は検者の経験によるところが大きく、再現性が乏しい。悪性の脂肪系腫瘍の場合、ある程度の切除縁を含めた広範切除術が必要となるが、高分化/脱分化型脂肪肉腫は高齢者に発生することが多く、大きな手術侵襲は大きな機能損失に結びつくため、良悪性の術前鑑別診断は術式の選択において重要である。申請者らは、日常診療で行われている針生検で得られた微量検体での MDM2、CDK4 遺伝子発現を定量的に解析することで、良性脂肪腫と高分化型脂肪肉腫の鑑別診断における有用性を検証した。

【方法】切除術と病理組織診断がなされた脂肪腫 124 例、高分化型脂肪肉腫 44 例の計 168 例を対象

(1) 切除検体での検証

- ・染色体分析 (G-Band 分染法)
- ・良性脂肪腫と高分化型脂肪肉腫の切除検体から RNA を抽出
 - ① RT-PCR 法を用いて HMGA2 融合遺伝子を検出
 - ② 定量的 PCR 法を用いて MDM2 と CDK4 の発現量を定量化

まず、切除標本における染色体分析と RT-PCR による HMGA2 融合遺伝子の有無、定量的 PCR 法による MDM2 および CDK4 の発現量を比較検討した。

(2) 針生検検体との比較

- ・針生検で採取した微量検体から RNA を抽出

①定量的PCR法を用いてMDM2とCDK4の発現量を定量化

②切除検体と微量検体でのMDM2とCDK4の発現量を比較

次に、針生検検体と切除検体でのMDM2とCDK4の発現量を比較検討した。

【結果】染色体分析を104例（良性脂肪腫66例、高分化型脂肪肉腫38例）について解析した。良性脂肪腫では85%に遺伝子異常を認め、良性脂肪腫に特異的とされている遺伝子異常が多かったが、7%に高分化型脂肪肉腫で認められるring chromosomeが認められた。高分化型脂肪肉腫では95%に遺伝子異常を認め、42%にring chromosomeがみられた。

RT-PCR法によるHMGA2融合遺伝子の解析を128例（良性脂肪腫96例、高分化型脂肪肉腫32例）に行った。良性脂肪腫の12%にHMGA2融合遺伝子が確認された。また、高分化型脂肪肉腫においても3%に確認された。

切除検体に対する定量的PCR法を149例（良性脂肪腫108例、高分化型脂肪肉腫41例）について解析した。MDM2の発現量は中央値で脂肪腫2.0、高分化型脂肪肉腫3.4、CDK4は脂肪腫1.0、高分化型脂肪肉腫2.9であった。切除標本でのreal-time PCRでは組織学的診断で高分化型脂肪肉腫と診断された症例がMDM2、CDK4とも良性脂肪腫と比較し有意に高かった。また、染色体異常別に比較するとring/giant chromosome持つ脂肪腫、高分化型脂肪肉腫はMDM2、CDKとも他の染色体異常の症例と比較し有意に高かった。

微量検体に対する定量的PCR法を38例（良性脂肪腫28例、高分化型脂肪肉腫10例）について解析し、切除検体と比較した。微量検体の良性脂肪腫は中央値でMDM2 1.35、CDK4 0.89、高分化型脂肪肉腫はMDM2 3.94、CDK4 1.41であった。切除検体の良性脂肪腫はMDM2 1.31、CDK4 0.74、高分化型脂肪肉腫はMDM2 2.69、CDK4 1.10であった。MDM2、CDK4の発現量において微量検体と切除検体との間に統計学的に差は認められなかった。

【考察】RT-PCR法では良性脂肪腫にみられるHMGA2融合遺伝子の陽性率は低かったが、染色体検査の結果と一致しており診断的意義は高いと考えられる。また、RNAを用いた定量的PCR法では組織診断で高分化型脂肪肉腫と診断され、染色体検査でring/giant chromosomeを持つ症例においてMDM2、CDK4とも高発現がみられ、一部の例外を除き鑑別補助診断として有用であった。RNAを用いて遺伝子解析を行うことでHMGA2融合遺伝子の発現とMDM2、CDK4の増幅を同一検体で解析することが可能であり、脂肪系腫瘍の鑑別診断に有用であると考えられる。

針生検で採取された微量検体においても、定量的PCR法では切除標本と同等の発現量を示しており、針生検による組織診とあわせて評価することによって診断の精度が高くなる可能性が考えられる。術前の針生検による定量的PCR法は良悪性の鑑別や治療計画の一助となると考える。

審査結果の要旨

目的：脂肪系腫瘍の鑑別にMDM2、CDK4の免疫染色が有用だが、定量評価が難しく、その判定は検者の経験によるところが大きく再現性が乏しい。申請者らは針生検で得られた微量検体でMDM2、CDK4遺伝子発現を定量的に解析することで、良性脂肪腫と高分化型脂肪肉腫の鑑別診断における有用性を検討した。

方法：脂肪系腫瘍168例を対象とした。切除検体における染色体分析とreal-time PCRによるMDM2、CDK4の定量値を解析した。次に針生検検体と切除検体でのMDM2、CDK4の発現量を検証した。

結果：切除検体でのreal-time PCRでは組織学的診断で高分化型脂肪肉腫と診断され、ring/giant chromosome持つ症例でMDM2、CDK4とも有意に高かった。また、微量検体と切除検体の発現量は同等であった。

考察：RNA を用いた real-time PCR で MDM2、CDK4 の定量化は鑑別診断に有用であった。針生検で採取した微量検体でも、定量的 PCR 法は切除標本と同等の発現量を示し、組織診とあわせて評価することで診断精度が高くなる可能性が考えられ、定量的 PCR 法は良悪性の鑑別や治療計画の一助となると考えられる。以上のことを明らかにしたことにより本論文の学位論文としての価値を認める。