

原

著

潰瘍性大腸炎における Dysplasia と散発性腺腫の鑑別のための アポトーシスの有用性に関する研究

岩 永 明 人

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器内科学分野・肝臓病学分野

(指導: 青柳 豊教授)

Usefulness of Apoptosis for Differential Diagnosis of Dysplasia and Sporadic Adenoma in Ulcerative Colitis

Akito IWANAGA

Division of Gastroenterology and Hepatology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Science

(Director: Prof. Yutaka AOYAGI)

要 旨

潰瘍性大腸炎に関連して発生した粘膜内腫瘍, いわゆる dysplasia (Ulcerative colitis - associated dysplasia, 以下 UCAD) と散発性腺腫 (Sporadic adenoma, 以下 SA) の鑑別にアポトーシスが有用かどうかを明らかにするため, 我々は dysplasia と散発性腺腫におけるアポトーシス, p53 蛋白過剰発現 (p53 protein overexpression, 以下 p53 OE) の有無, および p53 遺伝子変異について評価した. 23 病変の UCAD と 38 病変の SA について, hematoxylin eosin (HE) 染色, p53 免疫染色, および DNA nick end labeling, さらに polymerase chain reaction (PCR) and direct sequencing にて p53 遺伝子変異の検索を施行した. p53 OE 陽性 UCAD と p53 OE 陰性 UCAD のアポトーシス数は, それぞれ 0.48 (± 0.64), 0.20 (± 0.37) であり, 有意差 ($p = 0.020$) を認めた. UCAD 全体 (p53 OE 陽性陰性を合わせたもの) では 0.35 (± 0.55) で, SA の 8.39 (± 12.01) と有意差 ($p < 0.01$) を認めた. また, p53 遺伝子変異は, p53 OE 陽性 UCAD と p53 OE 陰性 UCAD でそれぞれ 88.9 %, 72.0 % であった. 一方, SA では全例で p53 遺伝子変異陰性であった. p53 の主な機能の一つがアポトーシスの誘導であり, UCAD におけるアポトーシス数の低下は, p53 遺伝子変異に関連している可能性がある. アポトーシスの評価, p53 遺

Reprint requests to: Akito IWANAGA
Division of Gastroenterology and Hepatology
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Science
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先: 〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757
新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野・
肝臓病学分野 岩 永 明 人

伝子変異の有無の推定、さらには SA との病理学的鑑別に有用である。

キーワード：潰瘍性大腸炎、アポトーシス、dysplasia、p53、散発性腺腫

緒 言

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis, 以下 UC) の長期経過例では、炎症に関連した大腸癌のリスクが増大する¹⁾²⁾。UC 関連粘膜内腫瘍 (UC-associated dysplasia, 以下 UCAD) は、前癌病変および癌発生の高リスクマーカーとして重要である³⁾。特に隆起を呈する UCAD は、Dysplasia-associated lesion or mass (以下 DALM) と呼ばれ、浸潤癌を高率に伴うとされている⁴⁾。このため DALM と診断されると、基本的に大腸全摘術が推奨されている⁵⁾⁶⁾。

一方、散発性腺腫 (Sporadic adenoma, 以下 SA) は、通常の大腸粘膜と同様に UC 粘膜にも発生し得る。SA は通常、内視鏡的切除 (内視鏡的粘膜切除術 Endoscopic mucosal resection; EMR もしくは内視鏡的粘膜下層剥離術 Endoscopic submucosal dissection; ESD) で治療される。このように UCAD と SA とでは、治療方針が全く異なる (前者は大腸全摘術、後者は内視鏡的切除) ため、長期罹患 UC における UCAD の診断は慎重でなければならない。

UCAD と SA との病理学的診断はしばしば困難であるが、いくつかの鑑別点が報告されている。これまでに p53, β -catenin, bcl-2 の発現等の相違が報告されている⁷⁾⁻¹²⁾ が、現時点で最も診断の補助となるのが p53 遺伝子変異の有無であろう。p53 遺伝子変異は、UC 関連腫瘍発生過程 (dysplasia-carcinoma sequence と呼ばれている) の早期段階で出現するとされている⁸⁾¹³⁾。一方で、通常のいわゆる adenoma-carcinoma sequence では、その後期段階で p53 遺伝子変異が出現することが多い⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾。すなわち、dysplasia-carcinoma sequence では、dysplasia の段階で p53 遺伝子変異が出現し、adenoma-carcinoma sequence では adenoma の段階では p53 遺伝子変異はまだ出

現していないことが多い。このため、p53 遺伝子変異の有無が UCAD と SA の鑑別として有用であるとされている。通常、p53 遺伝子変異があると免疫染色で p53 蛋白過剰発現 (p53 protein overexpression; 以下 p53 OE) としてとらえられる。しかし、全ての UCAD が p53 OE を呈するわけではなく、UCAD の 30-80 % で認められる¹⁴⁾⁻¹⁷⁾。一方、SA では p53 OE は 0-15 % でしか認められない⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾。p53 OE 陰性の UCAD の診断は大きな問題となっている。過去の報告によると、p53 OE 陰性の UCAD においてもしばしば p53 遺伝子変異を伴うとされている¹⁸⁾。したがって、p53 OE 陰性は必ずしも p53 遺伝子変異のないことを意味するわけではない。しかし、全ての病変で p53 遺伝子変異を検索することは、日常の病理診断上実際的ではない。

そこで我々は、アポトーシスに着目した。アポトーシスの誘導は p53 蛋白の機能の一つである¹⁹⁾。野生型 p53 蛋白が正常に機能すれば、DNA 損傷に反応してアポトーシスが誘導される。しかし p53 遺伝子変異が生じると、アポトーシスの誘導に障害が生じる。DNA 損傷を伴う腫瘍性病変においてアポトーシスが正常に誘導されないことは、p53 遺伝子変異の存在を予想させる。以上より我々は、p53 遺伝子変異に関連して、SA より UCAD においてよりアポトーシスが抑制されているのではないかと仮説をたてた。UCAD と SA の病理学的鑑別においてアポトーシスが有用であるかどうかを検討するため、UCAD と SA におけるアポトーシスと p53 OE、および p53 遺伝子変異について評価した。

材料と方法

1. 検討対象

15 症例 23 病変の UCAD (図 1A) および炎症

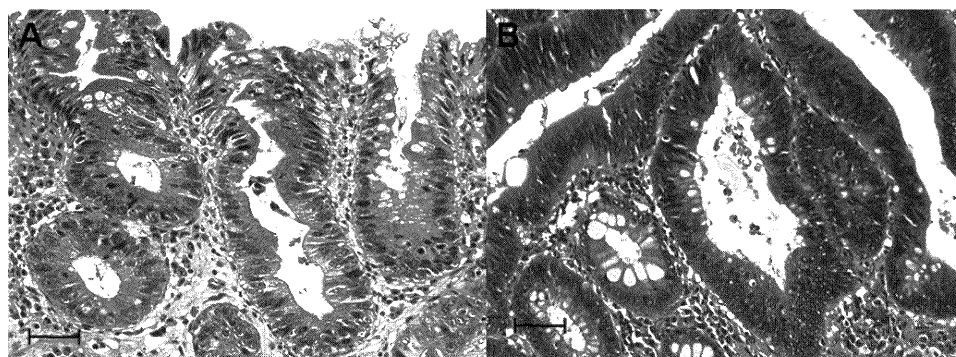


図 1A - B

(A) 潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD と
(B) 散発性腺腫 SA の組織

性腸疾患や家族性大腸腺腫症を伴わない38症例38病変のSA(図1B)における, フォルマリン固定されたパラフィン切片組織を用いた. 15症例のUC患者(男性9例, 女性6例, 年齢中央値40歳)は全て, 併存した炎症関連大腸浸潤癌ないしDALMのために全大腸切除術が施行されていた. 38病変のSA(男性24例, 女性14例, 年齢中央値71歳)には, 併存浸潤癌のために大腸部分切除されたもの(23例)と内視鏡的切除されたもの(15例)が含まれていた. また, Riddellらの分類³⁾にそって, 23病変のUCADはlow-grade dysplasia (LGD) 14病変, high-grade dysplasia (HGD) 7病変, 両者いずれも含まれるもの2病変に分類された. 全ての検体は, 3 μ mの厚さで薄切した後, hematoxylin eosin (HE) 染色, p53免疫染色, およびDNA nick end labelingが施行された. また, p53遺伝子変異の検索も施行した.

2. p53免疫組織化学

p53免疫染色は, p53抗体(Pab 1801, Leica microsystems, Newcastle Upon Tyne, United Kingdom)を用いて, streptavidin-biotin immunoperoxidase method (Histofine SAB-PO kit, Nichirei, Tokyo, Japan)によって施行した²⁰⁾. 陽性対照として, びまん性陽性を示すことが既知である大腸癌組織を用いた.

p53陽性細胞は, その強さにかかわらず核が茶色に発色することと定義した. その分布によって, 陽性細胞を全く認めないものをnull type, 一つもしくは少数の陽性細胞を集簇せず散在性に認めるものをsporadic type, 腺管底部に局限して陽性細胞を集簇して認めるものをbasal type, 腺管びまん性に陽性細胞を認めるものをdiffuse typeと4パターンに分類(図2A-D)し, 本検討では後2者をp53 OE陽性と定義した²⁰⁾²¹⁾.

3. DNA nick and labeling とアポトーシスの評価

アポトーシス細胞は, Gavrieliらが報告した²⁰⁾²²⁾, terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated biotinylated deoxyuridine-triphosphate nick-end labeling (TUNEL法)によって, 均一もしくは顆粒状に茶色に染色されたものとして認識した. 典型的には, 基底膜に囲まれたTUNEL陽性の核片が集簇したものを一つのアポトーシス細胞とした(図3B矢印). 光学顕微鏡にて対物レンズ40倍を1視野として, アポトーシス数を数えた. 1病変は, 組織型とp53免疫染色パターンによっていくつかの領域に分け, 領域ごとにランダム3視野のアポトーシス数を数え, その平均値をもってその領域のアポトーシス数と定義した(図3A).

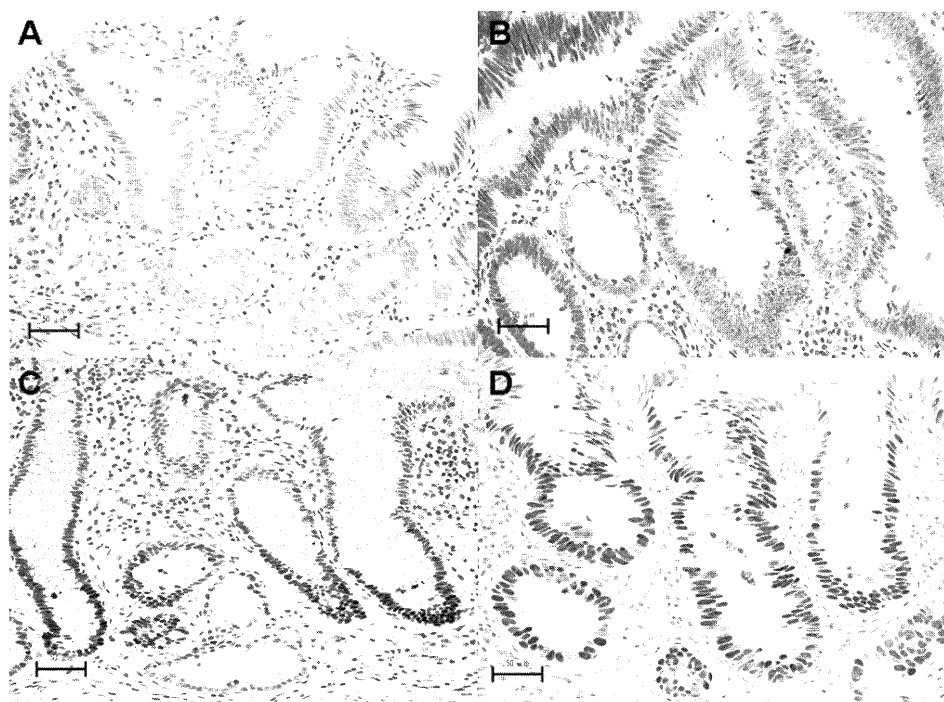


図 2A - D p53 免疫染色のパターン；
(A) null type, (B) sporadic type,
(C) basal type, and (D) diffuse type.

4. p53 遺伝子変異の検索

各病変から $10\mu\text{m}$ の厚さで薄切された連続切片 3 つを脱パラフィン化し、各領域毎に microdissection を施行した。DNA 抽出は、DNA Isolate PS Kit (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan) を用いて行った。その後、以前報告したように²³⁾、2 種類の primer を用いて polymerase chain reaction (PCR) によって遺伝子増幅した。さらに ABI PRISM 310 Genetic Analyzer を用いて、exon 5-8 における p53 遺伝子変異を検索した。

5. 統計解析

統計解析には、IBM SPSS 17 software package (SPSS Japan Inc., an IBM company, Tokyo, Japan) を用いて、Mann-Whitney U-test および Pearson's chi-square test にて行った。また、 $p < 0.025$ をもって有意差ありとした。

結 果

1. p53 OE

p53 免疫染色の結果は、図 1 に示した。23 病変 55 領域の UCAD のうち 30 領域で p53 OE を呈した。残りの 25 領域では p53 OE 陰性であった。38 病変 106 領域の SA は全てにおいて p53 OE 陰性であった。

2. アポトーシス (表 1, 図 3B, C, 図 4)

p53 OE 陽性 UCAD, p53 OE 陰性 UCAD, SA のアポトーシス数の平均値は、それぞれ $0.48 (\pm 0.64)$, $0.20 (\pm 0.37)$, $8.39 (\pm 12.01)$ であった。p53OE 陽性 UCAD と p53 OE 陰性 UCAD のアポトーシス数に有意差 ($p = 0.020$) を認めた。また、UCAD 全体 (0.35 ± 0.55) と SA のアポトーシス数に有意差 ($p < 0.01$) を認めた。UCAD のア

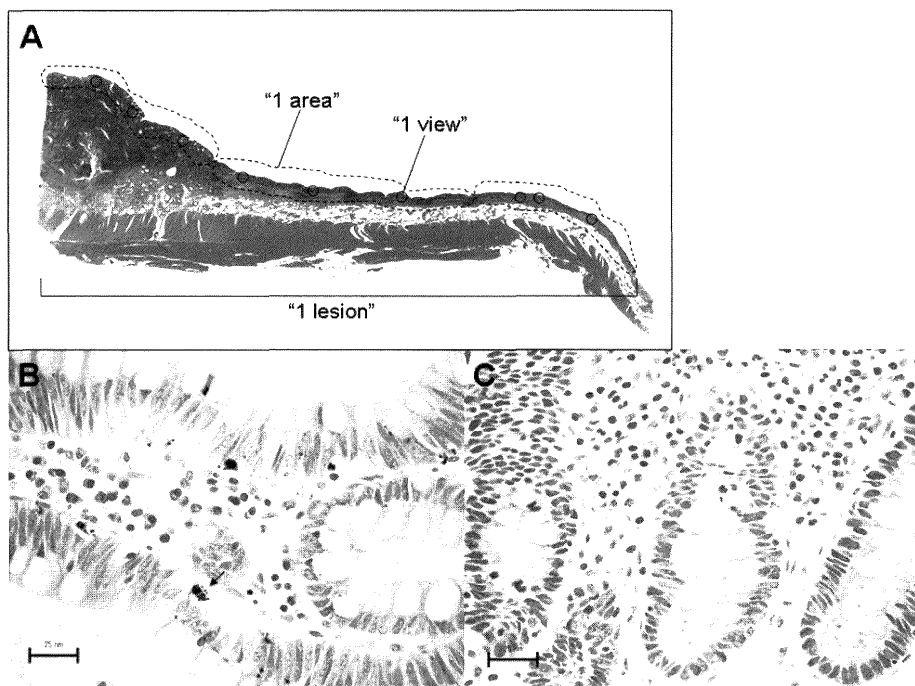


図 3A - C

- (A) 病変 lesion, 領域 area, 視野 view の関係と TUNEL 法によるアポトーシスの像;
 (B) 散発性腺腫 SA, (C) 潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD.

表 1

潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD と散発性腺腫 SA における, p53 蛋白過剰発現 (p53 OE), アポトーシス数 (平均値±標準偏差), および p53 遺伝子変異 (exons5-8)

	p53 OE	No. of area	No. of apoptosis	p53 genetic mutation
UCAD (23 lesions)	(+)	30	0.48±0.64*	24/27 (88.9%)†
	(-)	25	0.20±0.37**	18/25 (72.0%)††
SA (38 lesions)	(+)	0	-	-
	(-)	106	8.39±12.01***	0/106 (0%)

* vs **, P=0.02; * vs ***, P<0.01; ** vs ***, P<0.01; † vs ††, P>0.05.

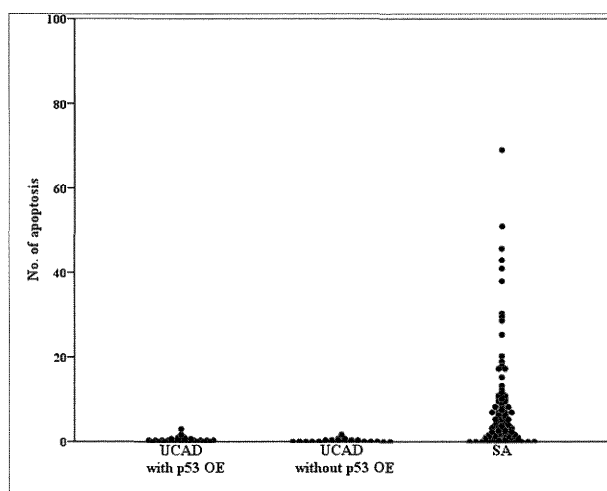


図 4

潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD と散発性腺腫 SA におけるアポトーシス数の分布

表 2 潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD における組織型と p53 遺伝子変異

	No. of area	p53 genetic mutation
LGD	37	29/37 (78.4%)*
HGD	18	13/15 (86.7%)**

LGD, low grade dysplasia; HGD, high grade dysplasia; * vs **, $P>0.05$.

ポトーシス数は全例で 3 以下と低値を示した。

考 察

3. p53 遺伝子変異 (表 1, 表 2, 図 5)

p53 遺伝子変異は, p53 OE 陽性 UCAD だけでなく, p53 OE 陰性 UCAD にも同程度認められた (それぞれ 88.9 %, 72.0 %). ナンセンス変異, フレームシフト変異 (欠失, 挿入) は, p53 OE 陰性 UCAD にのみ認めた. LGD と HGD との間で p53 遺伝子変異の頻度は同程度であった (それぞれ 78.4 %, 86.7 %) (表 2). SA では全例で p53 遺伝子変異を認めなかった.

本研究では, UCAD のアポトーシス数は SA に比し有意に低値であった. また UCAD では p53 OE 陽性または陰性に関わらず, p53 遺伝子変異を高率に認めた. 一方で SA では p53 遺伝子は全例で野生型であった. このことから, アポトーシスの減少は p53 遺伝子変異と関連していることが示唆された. つまり, アポトーシスの減少をとらえることで, p53 遺伝子変異を直接検索することなく, p53 遺伝子変異の存在を推定できる可能性がある. アポトーシスが, p53 OE 陰性 UCAD 診

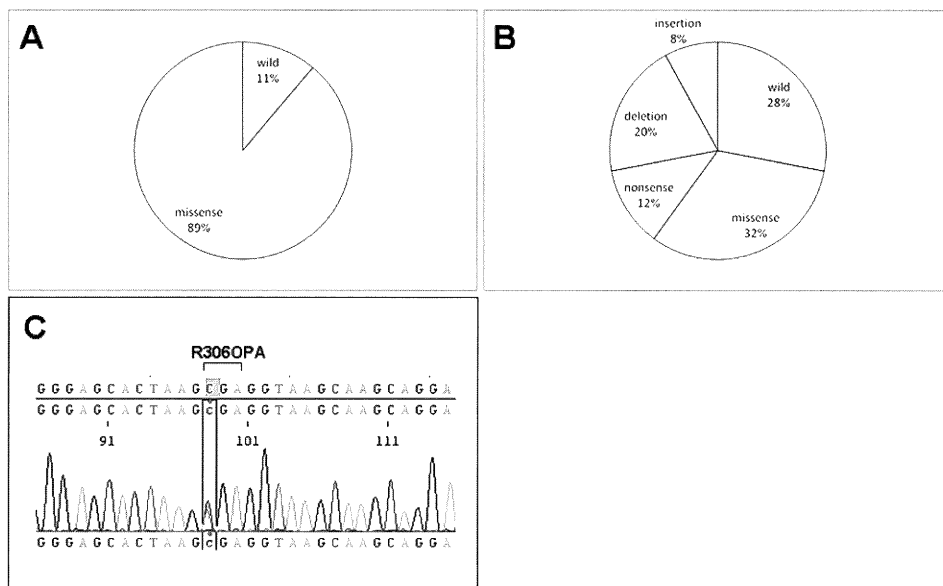


図 5A-C

潰瘍性大腸炎関連粘膜内腫瘍 UCAD における *p53* 遺伝子変異のパターン；
 (A) *p53* 蛋白過剰発現 (*p53* OE) 陽性例, (B) *p53* OE 陰性例, および
 (C) ナンセンス変異の具体例 (exon 8 の codon 306 において TGA が CGA に変化している)

断のためのマーカーとなることが期待される。注意すべき点として、本研究では SA の中にもアポトーシス数が低値であるものが少なからず存在したため、アポトーシス数が低値である時には、UCAD と SA とも言えない。逆にアポトーシス数が高値であれば UCAD よりも SA である可能性が高いといえる。

また、LGD と HGD との間で、*p53* 遺伝子変異率に有意差を認めなかったことは、UC 関連発癌過程において *p53* 遺伝子変異が早期に (LGD の段階で既に) 生じているという過去の報告¹⁴⁾に合致すると思われる。

p53 OE 陰性 UCAD では、*p53* OE 陽性 UCAD に比しアポトーシス数がより低値であった。これは、*p53* OE 陰性 UCAD においてのみ、ナンセンス変異やフレームシフト変異といった比較的稀な変異がみられたことと関係している可能性がある。

続いて、*p53* 遺伝子変異と *p53* OE との関係に

ついて考察する。一般的に、変異した *p53* 遺伝子によって合成された変異 *p53* 蛋白は、半減期が野生型 *p53* より異常に長く、*p53* 免疫染色にて蛋白過剰発現として認識される。しかし、ある一定の条件下で 2 種類の不一致が存在する。すなわち、*p53* 遺伝子変異が認められるのにかかわらず *p53* OE 陰性を呈する場合と、*p53* 遺伝子変異が認められないのにかかわらず *p53* OE 陽性を呈する場合の 2 つである。前者については、ナンセンス変異やフレームシフト変異によって説明できる。ナンセンス変異では、いわゆるストップコドンによって蛋白合成が中断され、*p53* 蛋白が合成されない。フレームシフト変異では、塩基の欠失や挿入によって、全く異なった蛋白が合成されてしまう。このような状態では、*p53* 遺伝子変異が存在するにも関わらず、*p53* 蛋白発現が認められないものと考えられる。さらに Yoshida らは、サイレント変異によっても前者のような不一致が生じると述

べている²⁴⁾。他の可能性としては、スプライシング部位の変異が挙げられる。この変異があると成熟 mRNA が生成されず、蛋白が合成されない。後者については、検索範囲外の exon に変異がある場合が考えられる。本研究で検索した p53 遺伝子は最も変異の頻度が高いとされる exon 5-8 であり、他の exon 内の変異があった場合、後者の原因となり得る。さらに、Mdm2 や p14^{ARF} に関連した p53 不活性化システムの不具合も原因として考えられる²⁵⁾⁻²⁷⁾。他に、フォルマリン固定時間や遺伝子検索や免疫染色といった技術的問題もこれらの不一致の原因として考えられるであろう。

アポトーシスに関して、p53 非依存性のアポトーシス経路（例えば、p73 によって誘導される経路など）についても考慮しなければならない²⁸⁾。p53 非依存性経路では、p53 遺伝子変異の存在下でもアポトーシスが誘導される。我々の結果では、p53 遺伝子変異を伴う UCAD においてもアポトーシスが少数ながら認められたが、これらの病変では、p53 非依存性のアポトーシス経路が機能していた可能性がある。

以上のように p53 OE 陰性でも p53 遺伝子変異が存在しないとは限らず、これが p53 OE 陰性 UCAD の診断を困難にしている一因となっている。p53 OE 陰性 UCAD が疑われた場合、TUNEL 法を用いたアポトーシスの評価によって、p53 遺伝子変異の有無を推定し、その診断の補助とすることができると我々は考える。しかしながら本研究では、アポトーシス数が低値を示した SA も存在し、注意を要する。一方、UCAD ではアポトーシス数が高値を示すものは認めず、高頻度のアポトーシスは、UCAD より SA を示唆する所見と考えるとよいと思われる。また、本研究で検討した SA は炎症性腸疾患を合併しないものだけを選択したが、今後、UC 粘膜に発生した SA も加えた検討が必要である。

結 論

TUNEL 法を用いたアポトーシスの評価は、p53 遺伝子変異の有無の推定、さらには UC 関連粘膜

内腫瘍（いわゆる dysplasia）と散発性腺腫の鑑別に有用である。すなわち、アポトーシスが高頻度であればより散発性腺腫を疑うことができ、p53 免疫染色と組み合わせることで、鑑別困難例が減少することが期待される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・肝臓病学分野 青柳 豊教授、同分子診断病理学分野 味岡洋一教授に感謝致します。また、本研究に関して助言・協力頂きました佐藤彩子技官、小林一恵技官をはじめ教室の皆様にも感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Eaden J, Abrams K and Mayberry J: The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 48: 526 - 535, 2001.
- 2) Ekblom A, Helmick C, Zack M and Adami H: Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 323: 1228 - 1233, 1990.
- 3) Riddell R, Goldman H, Ransohoff D, Appelman H, Fenoglio C, Haggitt R, Åhren C, Correa P, Hamilton S, Morson B, Sommers S and Yardley J: Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 14: 931 - 968, 1983.
- 4) Blackstone M, Riddell R, Rogers B and Levin B: Dysplasia-associated lesion or mass (DALM) detected by colonoscopy in long-standing ulcerative colitis: an indication for colectomy. *Gastroenterology* 80: 366 - 374, 1981.
- 5) Itzkowitz S and Harpaz N: Diagnosis and management of dysplasia in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 126: 1634 - 1648, 2004.
- 6) Ullman T, Odze R and Farrar FA: Diagnosis and management of dysplasia in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease of the colon. *Inflamm Bowel Dis* 15: 630 - 638, 2009.
- 7) Torres C, Antonioli D and Odze RD: Polypoid dysplasia and adenomas in inflammatory bowel

- disease - A clinical, pathologic, and follow - up study of 89 polyps from 59 patients. *American Journal of Surgical Pathology* 22: 275 - 284, 1998.
- 8) Walsh S, Loda M, Torres C, Antonioli D and Odze R: P53 and beta catenin expression in chronic ulcerative colitis - associated polypoid dysplasia and sporadic adenomas: an immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 23: 963 - 969, 1999.
 - 9) Mueller E, Vieth M, Stolte M and Mueller J: The differentiation of true adenomas from colitis - associated dysplasia in ulcerative colitis: a comparative immunohistochemical study. *Hum Pathol* 30: 898 - 905, 1999.
 - 10) Odze R: Adenomas and adenoma - like DALMs in chronic ulcerative colitis: a clinical, pathological, and molecular review. *Am J Gastroenterol* 94: 1746 - 1750, 1999.
 - 11) Tatsumi N, Kushima R, Vieth M, Mukaisho K, Kakiroki R, Okabe H, Borchard F, Stolte M, Okanoue T and Hattori T: Cytokeratin 7/20 and mucin core protein expression in ulcerative colitis - associated colorectal neoplasms. *Virchows Arch* 448: 756 - 762, 2006.
 - 12) Stenling R, Lindberg J, Rutegård J and Palmqvist R: Altered expression of CK7 and CK20 in pre - neoplastic and neoplastic lesions in ulcerative colitis. *APMIS* 115: 1219 - 1226, 2007.
 - 13) Benhattar J and Saraga E: Molecular genetics of dysplasia in ulcerative colitis. *Eur J Cancer* 31A: 1171 - 1173, 1995.
 - 14) Ajioka Y, Watanabe H and Matsuda K: Over - expression of p53 protein in neoplastic changes in ulcerative colitis: immunohistochemical study. *J Gastroenterol* 30 Suppl 8: 33 - 35, 1995.
 - 15) Taylor H, Boyle M, Smith S, Bustin S and Williams N: Expression of p53 in colorectal cancer and dysplasia complicating ulcerative colitis. *Br J Surg* 80: 442 - 444, 1993.
 - 16) Harpaz N, Peck A, Yin J, Fiel I, Hontarasos M, Tong T, Laurin J, Abraham J, Greenwald B and Meltzer S: p53 protein expression in ulcerative colitis - associated colorectal dysplasia and carcinoma. *Hum Pathol* 25: 1069 - 1074, 1994.
 - 17) Sato A and MacHinami R: p53 immunohistochemistry of ulcerative colitis - associated with dysplasia and carcinoma. *Pathol Int* 49: 858 - 868, 1999.
 - 18) Baas IO, Mulder JW, Offerhaus GJ, Vogelstein B and Hamilton SR: An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol* 172: 5 - 12, 1994.
 - 19) Sionov R and Haupt Y: The cellular response to p53: the decision between life and death. *Oncogene* 18: 6145 - 6157, 1999.
 - 20) Kobayashi M, Watanabe H, Ajioka Y, Yoshida M, Hitomi J and Asakura H: Correlation of p53 protein expression with apoptotic incidence in colorectal neoplasia. *Virchows Arch* 427: 27 - 32, 1995.
 - 21) Takaku H, Ajioka Y, Watanabe H, Hashidate H, Yamada S, Yokoyama J, Kazama S, Suda T and Hatakeyama K: Mutations of p53 in morphologically non - neoplastic mucosa of long - standing ulcerative colitis. *Jpn J Cancer Res* 92: 119 - 126, 2001.
 - 22) Gavrieli Y, Sherman Y and Ben - Sasson S: Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 119: 493 - 501, 1992.
 - 23) Yokoyama N, Hitomi J, Watanabe H, Ajioka Y, Pruyas M, Serra I, Shirai Y and Hatakeyama K: Mutations of p53 in gallbladder carcinomas in high - incidence areas of Japan and Chile. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 297 - 301, 1998.
 - 24) Yoshida T, Mikami T, Mitomi H and Okayasu I: Diverse p53 alterations in ulcerative colitis - associated low - grade dysplasia: full - length gene sequencing in microdissected single crypts. *J Pathol* 199: 166 - 175, 2003.
 - 25) Levine AJ: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88: 323 - 331, 1997.
 - 26) Prives C and Hall PA: The p53 pathway. *J Pathol* 187: 112 - 126, 1999.
 - 27) Efeyan A and Serrano M: p53: guardian of the genome and policeman of the oncogenes. *Cell Cycle* 6: 1006 - 1010, 2007.
 - 28) Roos WP and Kaina B: DNA damage - induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med* 12: 440 - 450, 2006.

(平成23年1月18日受付)