




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第 号	氏 名	清崎 邦洋
審査委員会委員	主査氏名	吉岡 秀克	
	副査氏名	白尾 国昭	
	副査氏名	白石 憲男	
論文題目 Analysis of p53 Mutations and the Expression of p53 and p21 ^{WAF1/CIP1} Protein in 15 Cases of Sebaceous Carcinoma of the Eyelid (眼瞼脂腺癌15例におけるp53遺伝子変異解析とp53、p21タンパク質の発現)			
論文掲載雑誌 Investigative Ophthalmology and Visual Science (in press)			
論文要旨 脂腺癌は主に眼周囲(眼瞼)に発生し、転移や再発が多く悪性度の高い皮膚悪性腫瘍である。眼周囲発生悪性腫瘍の中で、我が国において比較的多く見られる疾患である。p53遺伝子は、癌で最も高頻度に変異が検出され、その機能欠損が癌発生を上昇させる重要な癌抑制遺伝子である。申請者らは眼瞼脂腺癌におけるp53遺伝子の変異を解析すると共に、免疫組織化学的手法でp53及び、その転写標的因子で細胞周期制御因子であるp21タンパク質の発現を調べた。 眼瞼脂腺癌15症例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを使用した。遺伝子変異解析はLaser-captured microdissectionを用いて腫瘍細胞を回収してゲノムDNAを抽出後、PCR-SSCP法で変異バンドを検出し、p53遺伝子のエクソン5-8のシーケンスを行った。免疫組織化学は抗p53抗体及び抗p21抗体を用いて行った。 その結果、1) p53遺伝子変異解析により15例中10例(66.7%)において点変異が見られた。2) p53免疫組織化学は15例中8例において陽性、7例で陰性であった。p21免疫組織化学は全例において陽性を示したが、陽性細胞率にはばらつきが見られた。3) p53変異のある10例中8例がp53免疫組織化学陽性を示し、変異のない5例はすべて免疫組織化学陰性を示し、遺伝子変異と免疫組織化学所見に有意な相関が見られた。4) p53遺伝子変異の有無と患者の性別・年齢・腫瘍の部位・腫瘍の大きさ・リンパ節転移の有無・腫瘍のstageとの間の相関は見られなかった。また、p53遺伝子変異の有無とp21陽性細胞率の間にも相関は見られなかった。5) p21陽性細胞率と患者の性別・年齢・腫瘍の部位・腫瘍の大きさには相関は見られなかった。しかし、リンパ節転移の有無と逆相関が見られた。 今回の研究より、眼瞼脂腺癌は他臓器の癌に比較してp53遺伝子変異が多い癌であることが分かった。眼瞼脂腺癌は皮膚悪性腫瘍に分類されるが、皮膚癌において、p53遺伝子変異はUVによって引き起こされるとされ、多くはCCからTTへの2塩基連続変異が検出される。しかし、本腫瘍において、この変異は見られなかったことより、他の皮膚癌と異なり、その発癌メカニズムにUVの関与は低いことが示唆される。p21陽性細胞率の低下がリンパ節転移と相関していたことより、p21免疫組織化学による検査はリンパ節転移予測に有用であると考えられる。よって、本研究は審査員の合議により学位論文に値すると判断した。			

学 位 論 文 要 旨

氏名 清崎 邦洋

論 文 題 目

Analysis of p53 Mutations and the Expression of p53 and p21^{WAF1/CIP1} Protein
in 15 Cases of Sebaceous Carcinoma of the Eyelid

(眼瞼脂腺癌 15 例における p53 遺伝子変異解析と p53,p21 タンパク質発現)

要 旨

【緒言】

脂腺癌は主に眼周囲（眼瞼）に発生し、転移や再発が多く悪性度の高い皮膚悪性腫瘍である。欧米では眼周囲発生悪性腫瘍の中で4%、アジアにおいては25-40%と言われ、我が国においては比較的多く見られる疾患である。p53 遺伝子は、癌で最も高頻度に変異が検出され、その機能欠損が癌発生を上昇させる重要な癌抑制遺伝子である。DNA 損傷で誘導され、ゲノム修復の誘導や、アポトーシスにより前癌細胞残存を阻止し、ゲノムの守護神と称されている。これまで眼瞼脂腺癌において p53 遺伝子変異解析はほとんど為されていない。今回我々は眼瞼脂腺癌において p53 遺伝子変異を解析した。さらに免疫組織化学により、p53 とその転写標的因子であり、細胞周期の制御に関わる p21 タンパク質発現を調べ臨床病理学的検討を行った。

【研究対象および方法】

眼瞼脂腺癌 15 症例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを使用した。遺伝子変異解析は、Laser-captured microdissection を用いて腫瘍細胞を回収してゲノムを抽出した後 PCR-single-strand conformation polymorphism (SSCP) 法で変異バンドを検出し、p53 遺伝子のエクソン 5-8 のシーケンスを行った。免疫組織化学は抗 p53 抗体(DO-7,Dako)、抗 p21 抗体(H-164,Santa Cruz)を用いた。

【結果】

1. p53 遺伝子変異解析により 15 例中 10 例(66.7%)において点変異が同定された。UV によつてのみ引き起こされるとされ、皮膚癌に多く見られる CC から TT への 2 塩基連続変異はいずれにも見られなかった。
2. p53 免疫組織化学は 15 例中 8 例において陽性であり、残りの 7 例は陰性であった。p21 免疫組織化学は全例において陽性を示したが、p21 陽性細胞率にはばらつきが見られた。
3. p53 変異のある 10 例中 8 例が p53 免疫組織化学陽性を示し、p53 変異のない 5 例はすべて p53 免疫組織化学陰性を示した。眼瞼脂腺癌では p53 遺伝子変異と p53 免疫組織化学の間に有意な相関がみられた。(p=0.007)
4. p53 遺伝子変異の有無と患者の性別・年齢・腫瘍の部位(上・下眼瞼)・腫瘍のサイズ・リンパ節転移の有無・腫瘍の stage との間に、いずれも相関は見られなかった。また、p53 遺伝子変異の有無と p21 陽性細胞率の間にも相関は見られなかった。(p=0.58)
5. p21 免疫組織化学陽性細胞率は患者の性別・年齢・腫瘍の部位(上・下眼瞼)・腫瘍のサイズとの間に、いずれも相関は見られなかった。しかしながら、リンパ節転移の有無との間には逆相関が見られた。(p=0.007)

【考察および結語】

・眼瞼脂腺癌では 66.7%に p53 遺伝子変異が見られた。これまでの報告によると卵巣癌で最も多く 47.8%、大腸癌で 43.2%、肺癌で 38.6%とされている。眼瞼脂腺癌は他臓器癌に比較しても p53 遺伝子変異の非常に多い癌であることが分かった。

・眼瞼脂腺癌は皮膚悪性腫瘍に分類されている。しかしながら検出された p53 遺伝子変異には、UV によつてのみ引き起こされるとされ、皮膚癌に多く見られる CC から TT への 2 塩基連続変異は検出されなかった。このことから眼瞼脂腺癌は他の皮膚癌とは異なり、その発癌メカニズムに UV の関与は低いことが示唆された。

・眼瞼脂腺癌において p21 陽性細胞の発現低下がリンパ節転移と相関していたことより、p21 免疫組織化学は眼瞼脂腺癌のリンパ節転移予測因子となり得るかもしれない。