甲論132

（別紙様式第３号）

論　文　要　旨

論　文　題　目

p53 Gene Alteration in Atypical Epithelial Lesions and Carcinoma in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis

（肺線維症に合併した肺癌および異型上皮病変における p53 遺伝子異常）

氏　名　河崎英範

【目的】

肺線維症は高率に肺癌を合併することが知られ、線維化の領域内に肺癌の多くが発生することから前癌状態にあると考えられている。線維化により形成された蜂窩肺内の化生または過形成病変が前癌病変であると考えられている。しかし、これら異型上皮病変における遺伝子異常の検索は、これまで行われていない。この研究では、肺癌を含めさまざまな癌で変異を認める癌抑制遺伝子 p53 遺伝子の変異を、線維化領域内の異型上皮病変および肺癌において検索した。

【方法】

肺線維症に合併した肺癌切除例の 19 症例において検討した。線維化の領域を含むパラフィンブロックより、10 枚の連続薄切切片を作成した。1 枚目はおよび 10 枚目は HE 染色で異型上皮病変の同定、分類を行った。異型上皮病変は 1)線毛円柱上皮過形成、2) 立方上皮過形成、3)胚細胞上皮過形成、4)扁平

上皮化生に分類した。パラフィン連続切片の2枚目は免疫染色を行いp53蛋白の過剰発現を検索した。抗体はRSP53を用い、ABC法で行った。残りの切片よりマイクロダイセクション法を用い目標とする病変部の細胞、組織を分離しDNAを抽出した。PCR-SSCP(polymerase chain reaction mediated single strand conformation polymorphism)法により、p53遺伝子exon5-8の変異を検索した。バンドシフトを確認した病変はシークエンスを行った。

【結果】

p53過剰発現は扁平上皮癌の62%(13/21)、異型を伴う扁平上皮化生の60%(3/5)、異型を伴わない扁平上皮化生の54%(16/30)、その他の肺線維症関連上皮病変の4%(1/26)に認めた。p53遺伝子変異は扁平上皮癌の57%(12/21)、異型を伴う扁平上皮化生の40%(2/5)、異型を伴わない扁平上皮化生の23%(7/30)に認め、その他の異型上皮病変に変

異は認めなかった。扁平上皮癌の多くはhomozygousな変異に対し、扁平上皮化生の多くはheterozygousな変異であった。多くの扁平上皮化生のp53遺伝子変異は、同一症例の癌病巣とは異なる変異を示し、転移性病変であることは否定された。p53の変異スペクトラムは扁平上皮癌では75%(9病変)がトランスバージョンで25%(3病変)がトランジションに対し、扁平上皮化生では29%(2病変)がトランスバージョンで71%(5病変)がトランジションであった。

【総括】

肺線維症に合併する異型上皮病変、特に扁平上皮化生に高率にp53遺伝子異常を認め、これらの病変が肺線維症における肺癌発生に深く関わっていることが示唆された。また、扁平上皮化生における変異スペクトラムは一般の肺癌とは異なり、喫煙と異なる因子が肺線維症における発癌に関わっていることが示唆された。

（別紙様式第７号）

論　文　審　査　結　果　の　要　旨

報告番号	＊論文博　第132号	氏　名	河崎英範
論文審査委員	平成 14 年 1 月 30 日		
	主査教授	斎藤　厚	印
	副査教授	村山貞之	
	副査教授	陣野吉廣	

（論　文　題　目）

p53 Gene Alteration in Atypical Epithelial Lesions and Carcinoma in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis

（論文審査結果の要旨）

上記論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。

１．研究の背景と目的

肺線維症は高率に肺癌を合併し、線維化の領域内に高率に肺癌が発生することから前癌状態にあると考えられている。線維化により形成された蜂窩肺内の過形成または化生病変が前癌病変であると考えられているが、これら異型上皮病変における遺伝子異常の検索は、これまで行われていない。本研究では、線維化領域内の異型上皮病変および肺癌における癌抑制遺伝子 p53 遺伝子の変異を検索し、肺癌発生との関連性を検討した。

２．研究内容

肺線維症に合併した肺癌切除例の 19 症例において検討した。線維化の領域を含むパラフィンブロックより、10 枚の連続薄切切片を作成した。1 枚目および 10 枚目は HE 染色で異型上皮病変の同定、分類を行い、異型上皮病変は 1)線毛円柱上皮過形成、2) 立方上皮過形成、3)杯細胞上皮過形成、4)扁平上皮化生に分類した。

パラフィン連続切片の 2 枚目は免疫染色を行い p53 蛋白の過剰発現を検索した。p53 過剰発現は扁平上皮癌の 62% (13/21)、異型を伴う扁平上皮化生の 60% (3/5)、異型を伴わない扁平上皮化生の 54% (16/30)、その他の異型上皮病変の 4% (1/26)に認めた。

備考　1　用紙の規格は、Ａ４とし縦にして左横書とすること。
　　2　要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
　　3　＊印は記入しないこと。

パラフィン連続切片の3枚目から9枚目よりマイクロダイセクション法を用い目標とする病変部の細胞、組織を分離しDNAを抽出した。PCR-SSCP (polymerase chain reaction mediated single strand conformation polymorphism)法により、p53遺伝子exon5-8の変異を検索した。p53遺伝子変異は扁平上皮癌の57% (12/21)、異型を伴う扁平上皮化生の40% (2/5)、異型を伴わない扁平上皮化生の23% (7/30)に認め、その他の異型上皮病変に変異は認めなかった。扁平上皮癌の多くはホモ接合性変異に対し、扁平上皮化生の多くはヘテロ接合性変異であった。多くの扁平上皮化生のp53遺伝子変異は、同一症例の癌病巣とは異なる変異を示し、転移性病変であることは否定された。p53の変異スペクトラムは扁平上皮癌では75%(9病変)がトランスバージョンで25%(3病変)がトランジションに対し、扁平上皮化生では29%(2病変)がトランスバージョンで71%(5病変)がトランジションであった。肺線維症に合併する異型上皮病変、特に扁平上皮化生に高率にp53遺伝子異常を認め、これらの病変が肺線維症における肺癌発生に深く関わっていることが示唆された。

3．研究の意義と学術的水準

本研究は、これまでほとんど研究がなされていなかった、蜂窩肺内の異型上皮病変における p53 遺伝子異常を検討している。マイクロダイセクション法を用い微小病変を精細に採取し、異型上皮病変の一部にすでに、遺伝子異常があることを確認している。この結果は、肺線維症に高率に肺癌を合併する一つの論拠であり、その研究成果は国際的に認められる高水準にあるものと判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

備考　1　用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
　　2　要旨は800字～1200字以内にまとめること。
　　3　＊印は記入しないこと。