

### P-53 肺腺癌における新規癌抑制遺伝子 TSLC-1 発現の臨床的検討

内野 和哉・西尾 渉・岡田 守人・阪本 俊彦  
坪田 紀明

兵庫県立成人病センター 呼吸器外科

【背景・目的】近年、非小細胞肺癌において TSLC-1 (tumor suppressor gene in lung cancer 1) が新規癌抑制遺伝子として同定されたが (Nature Genetics. 2001), その発現に関する臨床的な意義は全くわかっていない。今回、我々は肺癌の中で最も頻度の高い腺癌において TSLC-1 発現の臨床的検討を行った。【方法】マウス SgIGSF を用いて、うさぎ血清から anti-TSLC-1 抗体を抽出した。(大阪大学医学系研究科病理病態学 伊藤彰彦先生の提供による) 当センターで完全切除がなされた肺腺癌症例 38 例を対象とし、免疫染色および Western Blotting 法を用いて癌組織標本における TSLC-1 蛋白発現と蛋白量を調べ、腫瘍径、リンパ節転移、リンパ管浸襲、血管浸襲及び予後との関連を検討した。【結果】肺腺癌症例 38 例を TSLC-1 蛋白発現率により以下に 3 群に分類した。Group-1: 全腫瘍細胞中 TSLC-1 蛋白発現率が 70% 以上 (n=14), Group-2: TSLC-1 蛋白発現率が 20%~70% (n=10), Group-3: TSLC-1 蛋白発現率が 20% 以下 (n=14) の 3 群である。TSLC-1 蛋白発現が低い程 (Group 1 より Group 2, Group 2 より Group 3 になる程)、腫瘍径が大きく (P=0.0003), リンパ節転移 (p=0.0005), 脈管浸襲 (P=0.0001) やリンパ管浸襲 (P=0.0001) の頻度が高度であった。また、予後に関しては TSLC-1 発現が低い程、全生存率、無再発生存率ともに低かった。【結語】今回の検討から TSLC-1 発現頻度は低い程、肺腺癌症例における腫瘍の悪性度は高く、さらには患者の予後因子となりうる事が示唆された。

### P-55 肺癌における MAGE-E1 遺伝子発現の検討

伊東 真哉・河野 洋三・尾柳 大樹・竹中 一正  
石川 真也・片倉 浩理・田中 文啓・和田 洋巳  
京都大学 医学部 呼吸器外科

【目的】Melanoma-associated-antigen (MAGE) はヒトメラノーマの細胞株より同定された蛋白である。その機能・臨床的意義については一部で明らかになっているのみである。今回我々は、悪性膠芽腫に高発現する MAGE family の新規遺伝子 MAGE-E1 について、肺癌細胞株および臨床検体におけるその発現を定量し検討した。【方法】肺癌細胞株および正常ヒト肺線維芽細胞 (NHLF) を対象とした。Real time RT-PCR 法で MAGE-E1 mRNA レベルを定量した。25 例の肺癌手術検体について、腫瘍と腫瘍より離れた正常肺組織を採取し、同様に MAGE-E1 mRNA を定量した。【成績】全ての細胞株と組織で MAGE-E1 mRNA の発現が確認された。細胞株では小細胞肺癌の細胞株 (NCI-H128, H146, H209) と肺腺癌の細胞株の一部 (NCI-H522) において MAGE-E1 の発現が高い傾向にあった。NHLF においても発現が認められた。発現の比 (MAGE-E1/GAPDH) は H128: H522: H146: H209: NHLF = 11.5: 5.2: 3.5: 1.3: 1 であった。【結論】肺小細胞癌の細胞株で MAGE-E1 の発現が高く肺小細胞癌のマーカーとしての有用性が示唆された。肺癌切除標本において腫瘍の MAGE-E1/GAPDH (平均値) = 0.053, 正常肺組織の MAGE-E1/GAPDH (平均値) = 0.013 で肺癌組織において発現が高値であった。組織型別では MAGE-E1/GAPDH の平均は AD (n=11) 0.038, SQ (n=9) 0.037, LA (n=3) 0.182, SC (n=2) 0.012 であった。さらに抗 MAGE-E1 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、stage, 分化度別に比較検討し有用な予後因子になりうるかを評価した。

### P-54 原発性非小細胞肺癌における p53 アポトーシス経路の異常および関連遺伝子 HAUSP・ASPP の発現解析

森 正一<sup>1,2</sup>・伊藤 源士<sup>1,3</sup>・宇佐美範恭<sup>1,2</sup>・前田 修<sup>1</sup>  
吉岡 洋<sup>2</sup>・今泉 宗久<sup>2</sup>・上田 裕一<sup>2</sup>・児玉 良典<sup>4</sup>  
高橋 雅英<sup>1</sup>・下方 薫<sup>3</sup>・関戸 好孝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学 医学部附属病院 予防医療部; <sup>2</sup>名古屋大学 医学部附属病院 呼吸器外科; <sup>3</sup>名古屋大学 医学部 呼吸器内科; <sup>4</sup>名古屋大学 医学部 腫瘍病理学

【目的】非小細胞肺癌における p53 アポトーシス経路の異常を包括的に解析し、さらに関連遺伝子 HAUSP および ASPP1, 2 の発現を解析した。【方法】1998 年 8 月から 2000 年 8 月までに名古屋大学医学部附属病院および関連 4 施設でインフォームドコンセントが得られ、切除された 118 例を対象とした。男性 76 例、女性 42 例で腺癌 81 例、扁平上皮癌 29 例、その他 8 例であった。p14ARF をプロモーター領域のメチル化解析と免疫染色法、HDM2 (Mdm2) をサザンプロット法と免疫染色法、p53 を SSCP 法とシークエンス法による変異解析と免疫染色法、BCL2 と BAX は免疫染色法でその比を解析した。また Akt を介してこの系に関与する PTEN を免疫染色法で、HAUSP および ASPP1, 2 はノザンプロット法で解析した。【成績】p14 は 45%, HDM2 は 25%, p53 は 63%, BCL2/BAX は 48%, PTEN は 36% で異常が認められた。この経路での異常は単一部位のみが 18%, 複数部位が 78%, 全体では 96% に異常が認められた。HDM2 の異常の存在は p53 の変異の存在と負の相関が認められたが、その他の遺伝子間の異常では明らかな関連を認めなかった。HAUSP および ASPP1, 2 は正常肺に比べて発現に差を認めなかった。【結論】原発性非小細胞肺癌では p53 アポトーシス経路の異常が、複数の箇所を高頻度に生じていた。HDM2 の異常と p53 の変異においては、相互の関連が示唆された。関連遺伝子 HAUSP および ASPP1, 2 の異常は原発性非小細胞肺癌に関与している可能性が低いと考えられた。

### P-56 非小細胞肺癌における RASSF1A および BLU 癌抑制遺伝子の不活性化の解析と臨床的意義の検討

伊藤 正夫<sup>1,2</sup>・近藤 征史<sup>1,3</sup>・内山 美佳<sup>1,2</sup>・伊藤 源士<sup>1,3</sup>  
森 正一<sup>1,2</sup>・吉岡 洋<sup>2</sup>・下方 薫<sup>3</sup>・関戸 好孝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学 医学部 附属病院 予防医療部; <sup>2</sup>名古屋大学 医学部 附属病院 胸部外科; <sup>3</sup>名古屋大学 医学部 附属病院 呼吸器内科

【目的】原発性非小細胞肺癌において染色体 3p21.3 の loss of heterozygosity が高頻度に認められる。肺癌細胞株における 3p21.3 のホモザイグス欠失の解析により RASSF1A および BLU が癌抑制遺伝子の候補として同定された。両遺伝子は promoter 領域のメチル化により不活性化されることが明らかにされてきたが、発癌の過程において両遺伝子のメチル化が必要か、それとも単独で十分なのかについては未だ不明である。今回原発性肺癌において両遺伝子の promoter 領域のメチル化を調べ、その関連を解析するとともに臨床的な意義についても検討した。【対象と方法】名古屋大学附属病院およびその関連施設で手術を施行した原発性非小細胞肺癌 135 例 (腺癌 100 例、扁平上皮癌 35 例) を対象とした。promoter 領域のメチル化は、bisulfate 処理後のゲノム DNA を methylation specific PCR を用いて解析した。【結果】RASSF1A のメチル化 (+) は 58 例 (43%) で、うち腺癌では 41%, 扁平上皮癌では 49% であった。BLU のメチル化 (+) は 81 例 (60%) で、腺癌、扁平上皮癌とも 60% と組織型による差はみられなかった。臨床病期、T 因子、N 因子、分化度、喫煙指数と各遺伝子のメチル化との間に有意な相関はなかった。両遺伝子ともメチル化 (+) は 42 例 (31%), RASSF1A のみメチル化 (+) は 16 例 (12%), BLU のみメチル化 (+) は 39 例 (29%), 両遺伝子ともメチル化 (-) は 38 例 (28%) で、2 つの遺伝子のメチル化には有意な相関関係を認めた (p<0.01)。【結論】原発性非小細胞肺癌の発癌過程において、RASSF1A および BLU の promoter 領域のメチル化が少なくとも一方に起こることが必要であり、さらに同時に不活性化する症例が最も高頻度であることが明らかにされた。