

氏名(本籍)	たき 瀧	もと 本	やす 泰	ひこ 彦	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)				
学位記番号	博甲第2659号				
学位授与年月日	平成13年3月23日				
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当				
審査研究科	医学研究科				
学位論文題目	Genetic heterogeneity of surgically resected prostate cancers and their biopsy specimens is related to their histological differentiation (前立腺癌の全摘標本と生検標本における遺伝子学的不均一性はその組織学的分化度に相関する)				
主査	筑波大学教授	医学博士	大塚	藤	男
副査	筑波大学教授	医学博士	住田	孝	之
副査	筑波大学助教授	医学博士	内田	和	彦

## 論文の内容の要旨

### (目的)

前立腺癌は近年増加傾向にあり、その予後は組織型の分化度とよく相関するが、前立腺癌は多発し、あるいは多発性の腺内転移を起こす特徴があり、同一腫瘍前にも組織学的分化度の異なる腫瘍細胞集団が存在する。一方、既に c-ras, c-myc, c-sis などの癌遺伝子異常, p53, DCC, APC, MCC, E-cadherin, BRCA1 などの癌抑制遺伝子や癌関連遺伝子の異常, 第3, 7, 8, 10, 11, 16 染色体の欠失頻度が高いなどの報告とともに、遺伝子変異の面からもヘテロな集団の存在が明らかになりつつある。我々は組織マイクロダイセクション法を用いて、正確に前立腺癌腫瘍細胞をその組織学的分化度や深達度別に採取し、同腫瘍細胞における6種類のマイクロサテライトマーカー遺伝子の LOH (loss of heterozygosity) と RERs (replication errors) を解析した。これらの頻度とどのマーカーに変異が起こっているかの変異のパターンとを組織学的分化度や腫瘍の深達度と比較して両者の関係について、また本方法を生検材料に適用することによって前立腺癌悪性度の遺伝子診断の可能性について検討した。

### (材料と方法)

1985年から1998年の間に筑波大学で前立腺全摘術と術前生検をうけた23人の前立腺癌患者を対象とした。全摘標本の異なる59病変と生検標本の8病変について検索した。改変 Gleason 分類と UICC の TNM 分類を用いて組織学的分類をおこなった。

ホルマリン固定、パラフィン包埋された薄切標本をヘマトキシリンとエオジン染色し、laser-captured microdissection (LCM) 法を用いて腫瘍細胞を採取した。腫瘍細胞採取には同一症例内で組織学的特徴の異なる複数の部位を選択した。採取した DNA をプロテアーゼ k で処理した後に、PCR-LOH 法により LOH と RERs について評価した。遺伝子マーカーは前立腺癌に LOH 頻度が高い6つマイクロサテライトマーカー (D3S647, D3S1228, D7S522, D8S137, NEFL, D10S190) を用いた。

### (結果と考察)

PCR による増幅成功率は 266/354 (59 病変 × 6 マーカー) (75.1%) であった。また情報が得られたのは 266 中 105

(39.4%)で、3症例では情報が全く得られなかった。20症例中10症例(50%)にLOHを、またこの10症例中8症例に病変ごとに異なるマーカー遺伝子のLOH(ヘテロなLOHのパターン)をみた。LOH頻度はD3S647で50%、D3S1228で0%、D7S522で9%、D8S137で14%、NEFLで30%、D10S190で16%であった。pT2症例のLOH頻度(2/8症例, 25%)はpT3症例(8/12症例, 67%)より低かった。pT2病変のLOH頻度は(1/28病変, 3%)はpT3病変(13/44病変, 30%)より有意に低かった。pT3症例の被膜外浸潤部のLOH頻度(9/23病変, 39%)は被膜内限局性病変部(8/41病変, 20%)より高い傾向にあった。また4症例にヘテロなRERsパターンを認めた。中分化度腫瘍のLOH頻度(2/24病変, 8%)は中低分化度と低分化度腫瘍(5/19病変, 26%と7/29病変, 24%)より低い傾向にあった。

8術前生検標本のうち3標本にLOHを認めた。同LOHパターンは全摘標本の同じ分化度を示す病変部のLOHパターンをよく反映していた。

本研究で示されたヘテロなLOHのパターンは以前に報告された前立腺癌の遺伝子変異の不均一性の存在を支持するものであるが、さらに我々は、組織学的分化度や腫瘍の深達度と遺伝子学的変異頻度に相関性があることを見いだした。前立腺癌の組織学的不均一性は組織学的分化度と相関する遺伝子学的不均一性が基礎になっていると考えた。生検標本は手術検体の腫瘍のLOHのパターンをよく反映していたが、生検標本のLOHは必ずしも同一症例の手術材料のLOHのパターン全体を明らかにできるわけではなく、術前生検による前立腺癌悪性度の遺伝子診断の可能性と限界を示唆した。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はマイクロダイセクション法を用いて前立腺癌の腫瘍細胞を深達度や組織学的分化度の異なる各部位から採取してマイクロサテライトマーカーのLOHをみたものである。腫瘍の深達度や組織学的分化度とLOH頻度が相関することを見出し、前立腺癌の組織学的不均一性は遺伝子変異の不均一性が基礎になっている可能性を指摘した。また生検標本と手術検体とは組織学的分化度が一致する範囲ではLOHパターンはよく一致したが、本研究で示した如くヘテロなパターンを呈する手術材料の全体像を明らかにできないので術前生検による前立腺癌悪性度の遺伝子診断の可能性とともにその限界を示唆している。今後検討症例数や使用マーカー遺伝子を増やして多くの因子を解析、比較するなどの課題は残されているものの、前立腺癌の組織学的不均一性を遺伝子学的不均一性の面から明らかにした点が評価できる。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。