O-107 多発尿路上皮癌におけるp53遺伝子変異の解析

九州大学医学部第二病理¹⁾、九州大学遺伝情報実験施設²⁾、同医学部泌尿器科³⁾
 後藤 健^{1,3)}、此元竜雄^{1,3)}、林 健志²⁾、熊澤浄一³⁾、恒吉正澄¹⁾

【目的】p53遺伝子は、現在、最も多くの悪性腫瘍において異常がみられ、膀胱癌をはじめとする尿路上皮癌においても高悪性度群を中心に高率な変異が報告されている。一方、尿路上皮癌の生物学的特性のひとつに、同時性または異時性の多発性が知られているが、多発例におけるp53遺伝子の解析は少ない。今回、われわれは多発尿路上皮癌に対してp53遺伝子変異を解析し、尿路上皮癌の多発の機序について考察した。

【対象と方法】多発尿路上皮癌42例84病変（同時多発32例、異時多発10例）の癌組織および正常組織からそれぞれフェノールクロロホルム法にて、DNAを抽出した。p53遺伝子exon5からexon9にかけてPCR-SSCP法を行い、異常バンドが認められた症例に対しては全例direct sequence法により、塩基配列を決定した。

【結果】22例（52%）、42病変（50%）に合計52この変異が認められた。変異の内容は、1塩基置換が48（92%）で、そのうちtransitionが42、transversionが6であった。また、残りの4つ（8%）は、1ないし数塩基の欠失または挿入であった。多発病変間の比較では、全く同じ変異であった例が7例、異なる変異が認められた例が11例であった。（考察）high grade, high stage例に変異が多かったが、pTa, pTisでもhigh grade例では多数の変異がみられ、p53遺伝子の変異は尿路上皮がんの発生進展における比較的早期の変化であると考えられた。変異の解析により、尿路上皮癌の多発の機序には、従来より知られていたfield defect theoryと腔内播種の両方が関与している可能性が示唆された。

O-108 p53点突然変異を分子マーカーとした尿路上皮癌の微小病変の検出法について

京都大学

山田 仁、寛 善行、奥野 博、Enver Özdemir、吉田 修

【目的】今日、数々の悪性腫瘍について膨大な量の分子生物学的知見が蓄積されてきている。当教室でも尿路上皮癌においてp53遺伝子の突然変異を始め、9番染色体などの異型接合性の消失が高頻度に認められること報告してきた。我々は今回、微小転移や尿中への播種を検出する目的で、p53点突然変異をマーカーとして、腫瘍細胞の検出を試みた。【対象】p53免疫組織化学にてスクリーニング後direct sequencingにて点突然変異が判明した尿路上皮癌症例の尿沈渣細胞及び尿中剥離細胞の短期培養の4例。【方法】3'端に変異塩基配列を導入したプライマーを用いて突然変異のあるDNAのみ増幅して検出するMutant-Allele Specific Amplification法（以下MASA法）に準じた。【結果】MASA法は偽陽性を減少させるため厳格な実験条件が必要であるが、p53を用いる場合癌遺伝子であるKi-rasを用いる場合と異なり突然変異が多様であるため、MASA法におけるPCRの至適条件が変動すると考えられ、偽陽性を否定するためには各症例毎に非常に慎重に検討する必要がある。そこで我々はMASA法の変法を工夫し、定量性を導入することにより、偽陽性を除外し尿沈渣細胞及び尿中剥離細胞の短期培養中から腫瘍細胞を検出し得たのでここに報告する。