

氏名	こうだ まさはる 香 田 正 晴
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第462号
学位授与年月日	平成16年 3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Expression of Fhit, Mlh1, and P53 protein in human gallbladder carcinoma (胆嚢癌における Fhit、Mlh1 及び P53 蛋白発現に関する検討)
学位論文審査委員	(主査) 貝原信明 (副査) 井藤久雄 村脇義和

## 学位論文の内容の要旨

胆嚢癌は早期診断が難しく、その予後は不良である。胆嚢癌の前駆病変として胆嚢腺腫があげられているが、胆嚢癌の発癌メカニズムは十分に解明されていない。*Fragile Histidine Triad (FHIT)* 遺伝子は 3p14.2 に位置し各種の癌で異常が認められ、癌抑制遺伝子の一つとして注目されている。その遺伝子産物である Fhit 蛋白発現の低下は DNA、RNA レベルの異常を反映していると考えられている。また、各種癌において DNA ミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* 遺伝子のプロモーター領域のメチル化が認められ、その結果として Mlh1 蛋白発現の消失、低下が報告されている。さらに最近の報告において DNA ミスマッチ修復遺伝子異常が *FHIT* 遺伝子異常を引き起こす可能性が示されている。今回我々は癌抑制遺伝子の一つである *FHIT* 遺伝子とミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* 遺伝子に注目し、それぞれの蛋白発現から、胆嚢癌における *FHIT* 遺伝子異常と *MLH1* 遺伝子異常との関係の有無を評価した。また P53 蛋白発現も含めて、これら 3 つの蛋白発現と臨床病理学的所見を比較検討した。

## 方 法

1991 年から 2001 年にかけて外科的に切除された胆嚢癌 20 例 (高分化型 7 例、中分化型 5 例、乳頭型 6 例、低分化型 2 例) と胆嚢腺腫 3 例のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いて、抗 *FHIT* ウサギポリクローナル抗体、抗 *MLH1* マウスモノクローナル抗体及び抗 P53 マウスモノクローナル抗体を用い、ABC 法により免疫組織化学染色を行った。Fhit 免疫組織化学染色の評価は、染色領域と染色強度で行い、発現領域では、0; <5%、1; 5~25%、2; 25~50%、3; 50~75%、4; >75%と、発現強度では、0; 陰性、1+; 微弱、2+; 中等度、3+; 正常と同等と点数化し、両者を掛け合わせ最終的スコアとした (範囲 0~12)。スコア 0~4 を著明減弱または消失、5~8 を中間発現、9~12 を高度発現とした。Mlh1 免疫染色では、腫瘍細胞の核での発現が 30%以下を陰性と評価した。P53 免疫染色では、腫瘍細胞の 25%以上の核での発現を陽性と評価した。

## 結 果

Fhit 蛋白は、正常胆嚢上皮細胞では細胞質に強く染色された。Fhit 蛋白発現の減弱または消失は、胆嚢癌 20 例中 9 例(45%)で認められ、その分化度別での内訳は、高分化型管状腺癌の 7 例中 3 例(43%)、中分化型管状腺癌の 5 例中 2 例(40%)、乳頭型腺癌の 6 例中 2 例(33%)、低分化型管状腺癌の 2 例(100%)であった。また、胆嚢腺腫では 3 例中 1 例(33%)で Fhit 蛋白発現減弱が認められた。Mlh1 蛋白は正常胆嚢では上皮細胞及び間質細胞の核に染色された。Mlh1 蛋白発現陰性は、胆嚢癌 20 例中 6 例(30%)、胆嚢腺腫 3 例中 1 例(33%)に認めた。Fhit と Mlh1 蛋白発現の関係では、Fhit 蛋白発現が減弱または消失している 10 例中 6 例(60%)に Mlh1 陰性を認めたが、Fhit 蛋白発現例(中間および高度)で Mlh1 陰性は 13 例中 1 例(7.7%)のみであった(P=0.0186)。P53 蛋白は、胆嚢癌の 55%に過剰発現が認められたが、Fhit と P53 蛋白発現との間には有意な関連はなかった。また、Fhit、Mlh1、P53 蛋白発現と臨床病理学的所見との関連についても検討したが有意な相関は認めなかった。

## 考 察

今回の我々の検討により、胆嚢癌、胆嚢腺腫で Fhit 蛋白発現の減弱が高頻度に認められ、胆嚢癌の発癌に重要な役割を果たしていると考えられた。一方、大腸癌では *FHIT* 遺伝子異常とミスマッチ修復遺伝子異常の関係が指摘されているが、胆嚢癌においても Mlh1 蛋白発現陰性例で Fhit 蛋白発現減弱が高頻度であり(P=0.0186)、*FHIT* 遺伝子がミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* のターゲット遺伝子の一つである可能性が示唆された。なお、P53 蛋白発現異常は胆嚢腺腫では認められず、胆嚢癌 55%に認められ、*p53* 異常は胆嚢癌の進行過程に関与する可能性が考えられた。

## 結 論

胆嚢癌において *FHIT* 遺伝子が発癌に強く関与している可能性が示され、この異常には、ミスマッチ修復遺伝子異常の関与が推測された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は癌抑制遺伝子である *FHIT* 遺伝子と DNA ミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* 遺伝子に注目し、免疫組織化学染色により、それぞれの遺伝子産物の蛋白発現から胆嚢癌における *FHIT* 遺伝子異常と *MLH1* 遺伝子異常との関連を検討するとともに、P53 蛋白発現についても検討した。その結果、Mlh1 蛋白発現陰性例で Fhit 蛋白発現減弱が高頻度であり、*FHIT* 遺伝子がミスマッチ修復遺伝子である *MLH1* 遺伝子のターゲット遺伝子の一つである可能性が明らかにされた。なお、Fhit と P53 蛋白発現との間には有意な相関はなかった。本論文は、*FHIT* 遺伝子に注目し、胆嚢癌での発癌機構の解明に貢献したものであり、明らかに学術水準を高めたものと認める。