

## 論文の内容の要旨

氏名：工 藤 逸 大

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Particular gene upregulation and p53 heterogeneous expression in *TP53*-mutated maxillary carcinoma

(*TP53* 変異型上顎癌における特徴的な遺伝子の発現亢進と p53 発現細胞の不均一な組織内分布)

背景：頭頸部癌の罹患率は低いが増加傾向にある。頭頸部癌はいまだ克服し得ない疾患で、5年生存率は約50%である。中でも上顎洞癌は自覚症状が少なく、治療開始時には癌が進行していることが多い。シスプラチンは上顎癌の治療において中心的役割を果たすが、その耐性が問題となっている。私が、そのシスプラチン抵抗性因子を検討したところ、*TP53* 変異癌が治療抵抗性を有意に示しやすいことがわかった。そこで本研究では、*TP53* 変異癌が変異のない癌と比べ、遺伝子発現パターンにどのような相違がみられるか検討した。

材料と方法：治療前検査の上顎癌生検組織 14 例を対象とし、変異の有無を決定した。*TP53* 変異の有無で Genechip マイクロアレイを用いて包括的遺伝子発現解析を行い比較した。発現量に差のあった遺伝子は、リアルタイム PCR で定量検証した。タンパク質発現については、一次抗体およびペルオキシダーゼ標識二次抗体を用いて、免疫組織化学で検討した。

結果：*TP53* 変異は 14 症例中 8 例に認め、点突然変異 5 例、スプライシング異常 2 例、フレームシフト変異 1 例であった。包括的遺伝子発現解析の結果、*TP53* 変異症例で発現が 3 倍以上増加していた遺伝子が 92、発現が 1/3 以下に低下していた遺伝子が 30 であった。さらに 4 倍以上差のあった 42 遺伝子を、リアルタイム PCR による発現定量で検証したところ、変異で差のある 21 遺伝子が明らかとなった。変異癌で発現亢進する 18 遺伝子には、予想外にも細胞接着の亢進、細胞増殖の抑制に関わる遺伝子が見出された。

*TP53* 変異癌で最も発現倍率が高かった Cystatin A(CSTA),Stratifin(SFN),Desmocollin 3(DSC3)は、いずれもタンパク質レベルで *TP53* 変異癌に強い発現を示した。さらに p53 タンパク質の組織内発現を検討したところ、正常副鼻腔粘膜は陰性で、*TP53* 野生型癌では癌細胞全体が核陽性であった。*TP53* 変異癌では癌全体が染まらず、間質と接する辺縁部の癌細胞のみ核が強く染色された。

考察：上顎癌の *TP53* 変異で発現量変化する遺伝子を明らかにした。増加していた細胞接着関連遺伝子・細胞増殖抑制関連遺伝子のなかでは、CSTA, SFN が、*TP53* 変異癌で 100 倍以上の発現亢進を認めた。CSTA 過剰発現の癌では、ECM 分解を阻害し癌進行を抑制すると考えられるが、予後不良と関連しているとされる報告もある。CSTA 過剰発現が直接治療抵抗性に関わるかは、今後の課題である。SFN はデスモソーム接着を減少させることが知られている。一方、*TP53* 変異上顎癌では DSC3 を含むデスモソーム関連遺伝子が発現亢進しており、最終的な細胞接着性については未知である。HPV 陽性咽頭扁平上皮癌は、HPV 陰性癌と比較して上皮間葉転換が亢進しているといわれており、*TP53* 変異癌（多くは HPV 陰性癌）は細胞接着性の維持が予想される。

*TP53* 変異癌の免疫染色で腫瘍中心部の癌細胞が p53 陰性となる理由は不明であるが、このような癌細胞の存在は治療抵抗性を示す機序となりうるかもしれない。最近、*TP53* のミスセンス変異は機能獲得型突然変異として理解されており、上顎癌でも変異 p53 が、新しい転写因子として働き、複数の遺伝子の発現亢進を起こした可能性はある。しかし、本研究では、癌の進行および悪性形質転換とは反対の腫瘍表現型をもたらすことを示唆した。今後、*TP53* 変異癌で発現亢進を認めた遺伝子、偏在発現する p53 が治療抵抗性に直接寄与するかを、培養がん細胞系で検討する必要があるだろう。