

图 3 胃癌手術症例 (1990 ~ 2000 年)

表1 胃癌手術症例(1990～2000年)

	70 歳未満	70 歳代	80 歳以上	計
総数 (年代別割合)	298 (61%)	154 (32%)	35 (7%)	487 (100%)
男性	199 (66.8%)	97 (63.0%)	22 (62.9%)	318 (65.3%)
女性	99 (33.2%)	57 (37.0%)	13 (37.1%)	169 (34.7%)
全摘	57 (20.2%)	28 (21.2%)	3 (10.7%)	88 (19.9%)
噴門側切除	20 (7.1%)	16 (12.1%)	2 (7.1%)	38 (8.6%)
幽門側切除	174 (61.7%)	72 (54.5%)	16 (57.1%)	262 (59.3%)
その他	31 (11.0%)	16 (12.1%)	7 (25.0%)	54 (12.2%)
切除:非切除	282 : 16	132 : 22	28 : 7	442 : 45
(切除率)	(94.6%)	(85.7%)	(80.0%)	(90.8%)

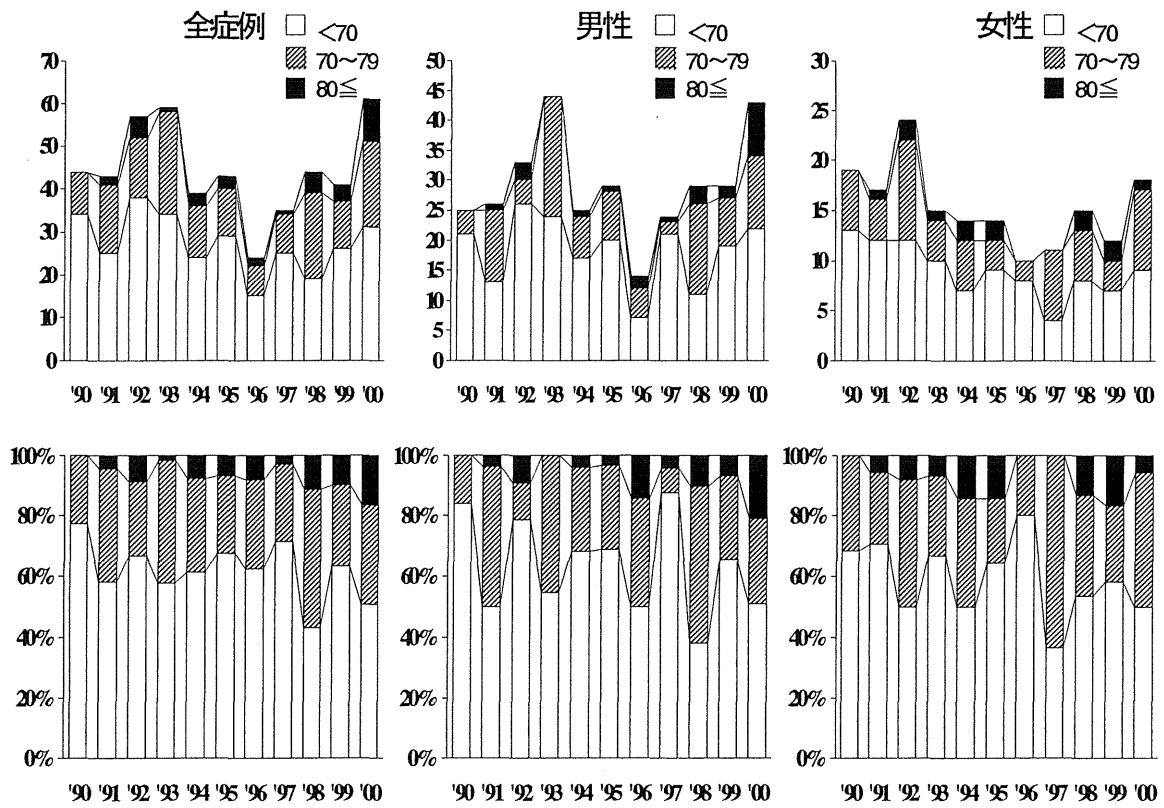


図4 年次別高齢者胃癌手術症例

(上段:実数 下段:割合)

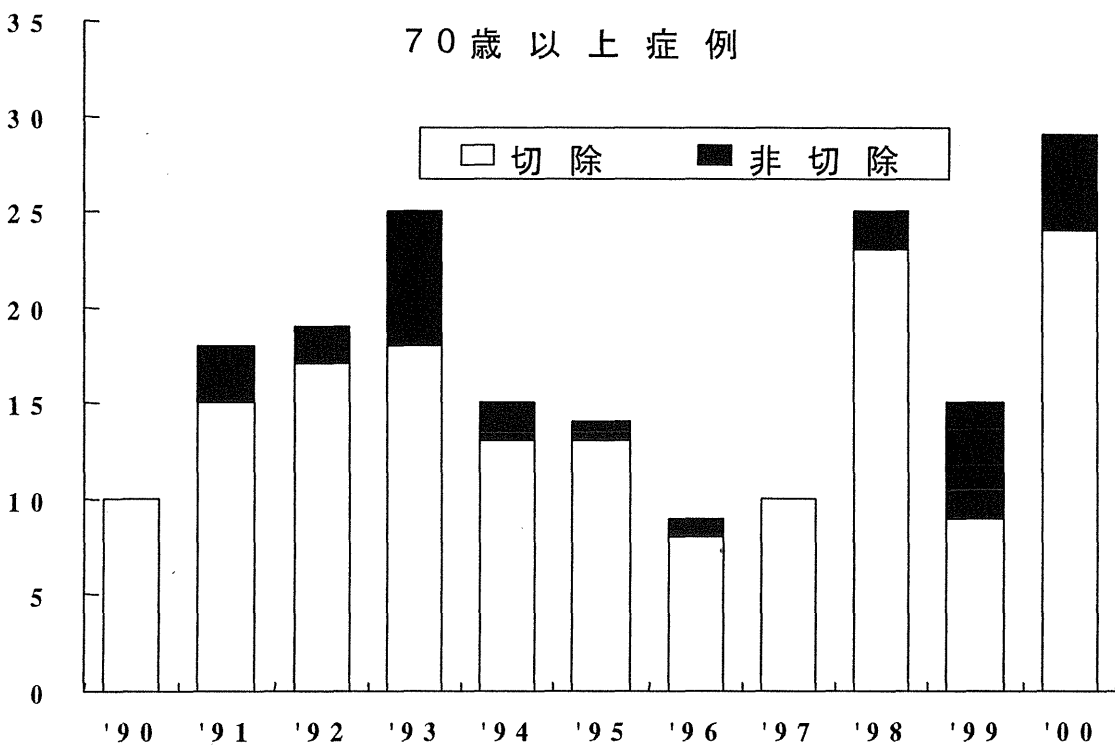
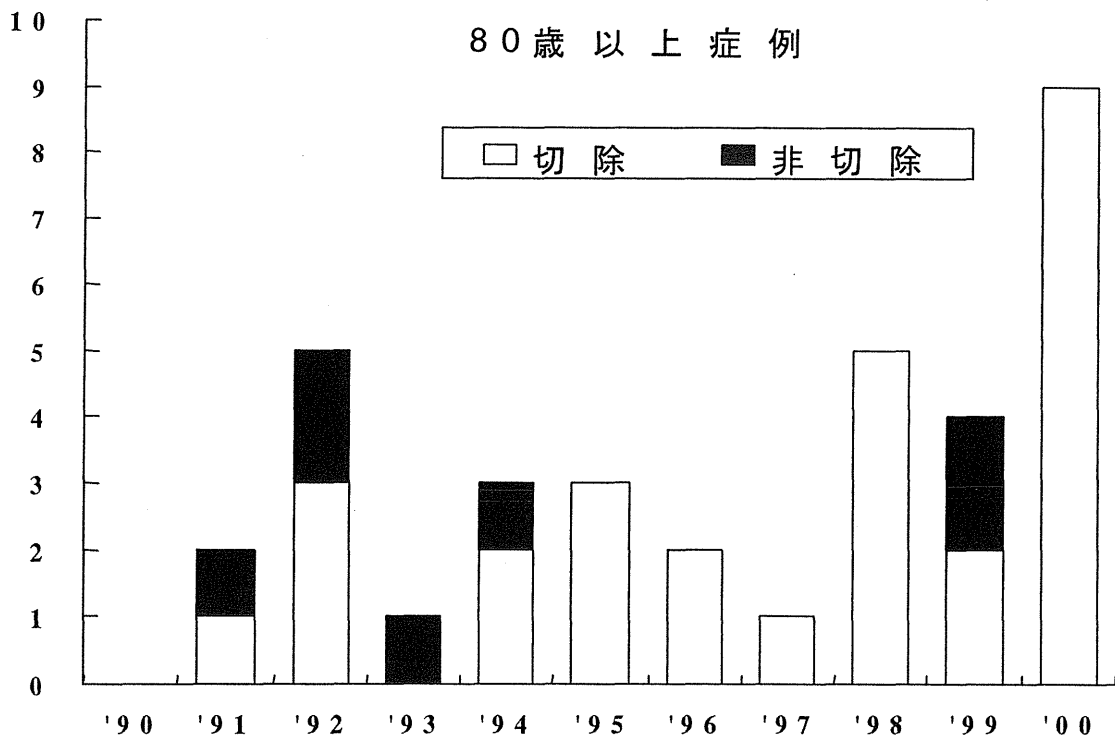


圖 5 高齡者胃癌手術症例切除率推移

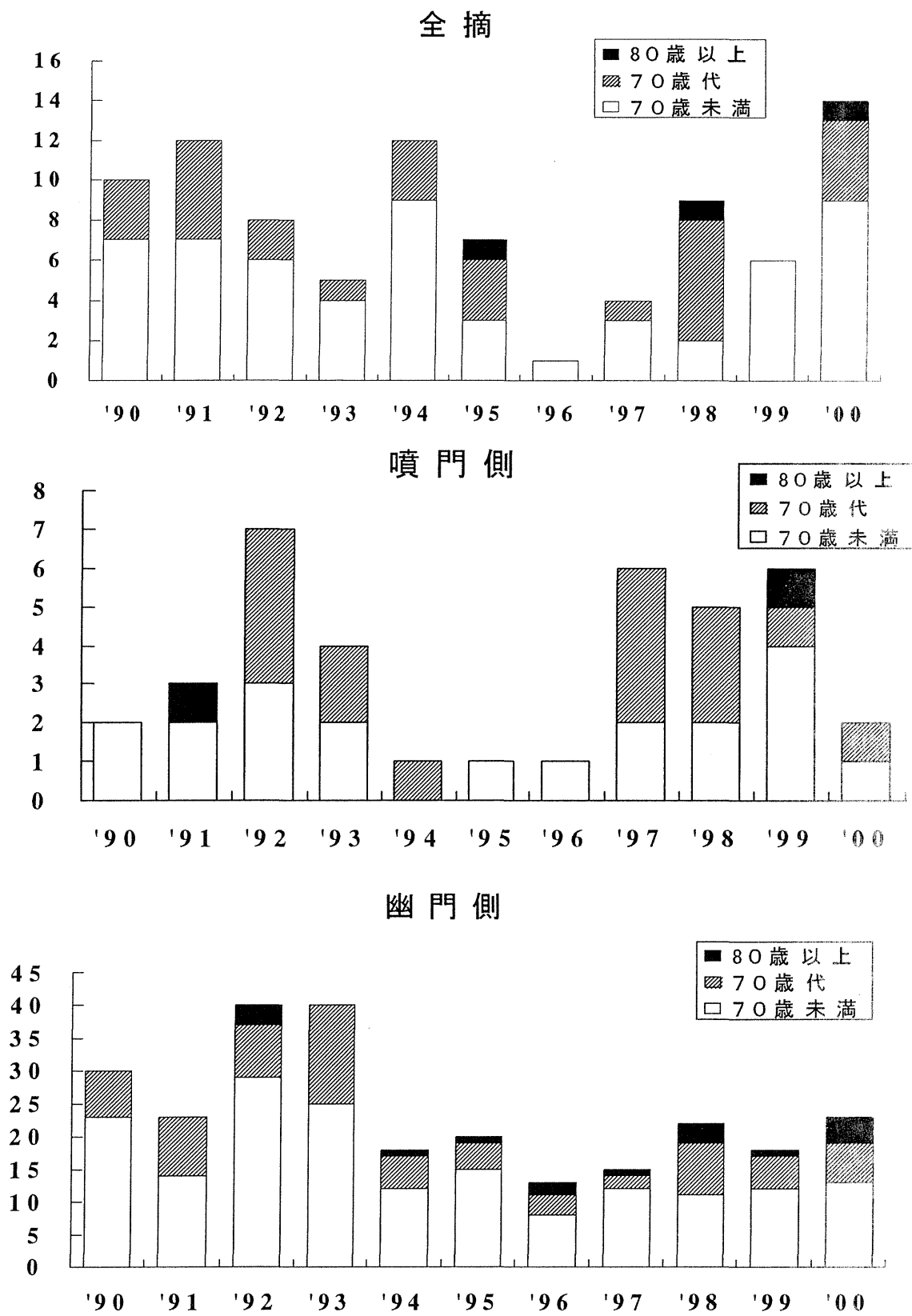


図 6 術式別高齢者胃癌手術症例推移

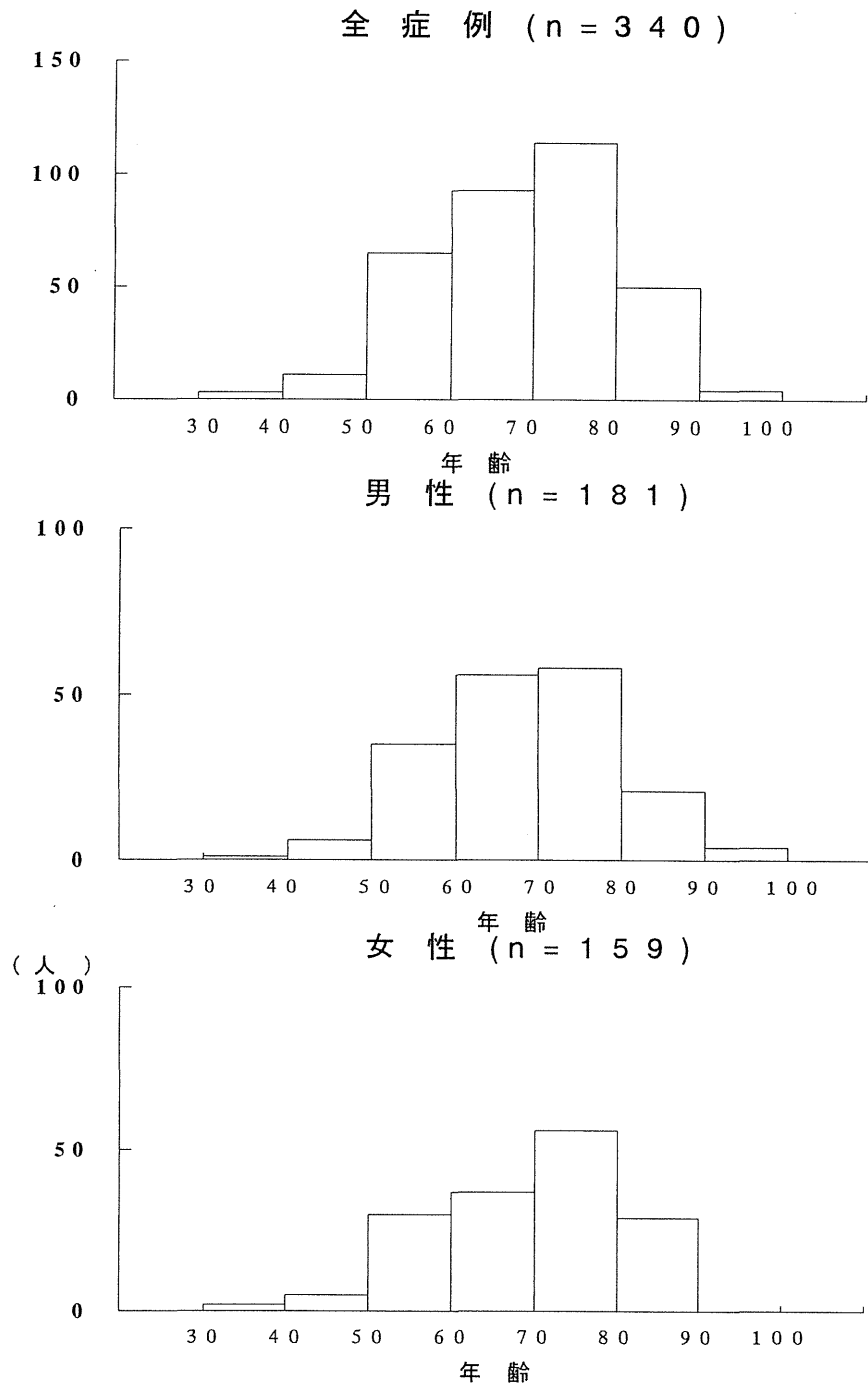


図 7 大腸癌手術症例 (1990～2000年)

表2 大腸癌手術症例(1990～2000年)

	70 歳未満	70 歳代	80 歳以上	計
男性	98 (57.0%)	58 (50.9%)	25 (46.3%)	181 (53.2%)
女性	74 (43.0%)	56 (49.1%)	29 (53.7%)	159 (46.8%)
.....				
結腸癌 (結腸癌に占める割合)	107 (48%)	77 (35%)	38 (17%)	222 (100%)
直腸癌 (直腸癌に占める割合)	65 (55%)	37 (31%)	16 (14%)	118 (100%)
計 (大腸癌全体に占める割合)	172 (50%)	114 (34%)	54 (16%)	340 (100%)
.....				
切除:非切除	164 : 8	104 : 10	47 : 7	315 : 25
(切除率)	(95.3%)	(91.2%)	(87.0%)	(92.6%)

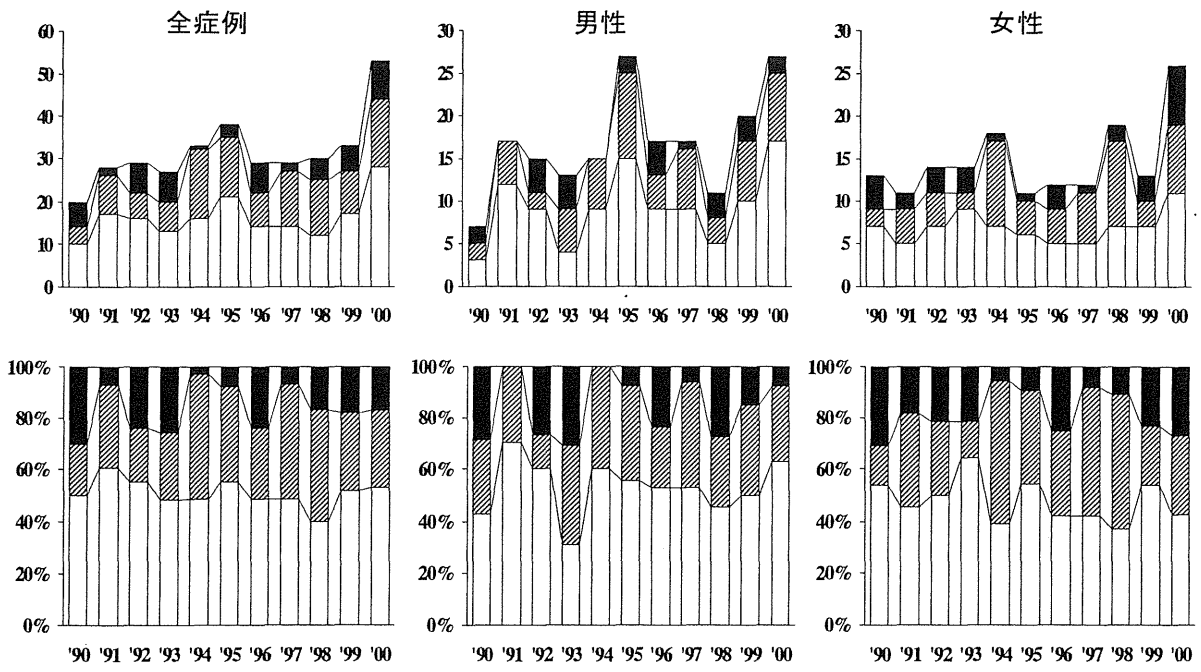


图 8 年次別大腸癌手術症例

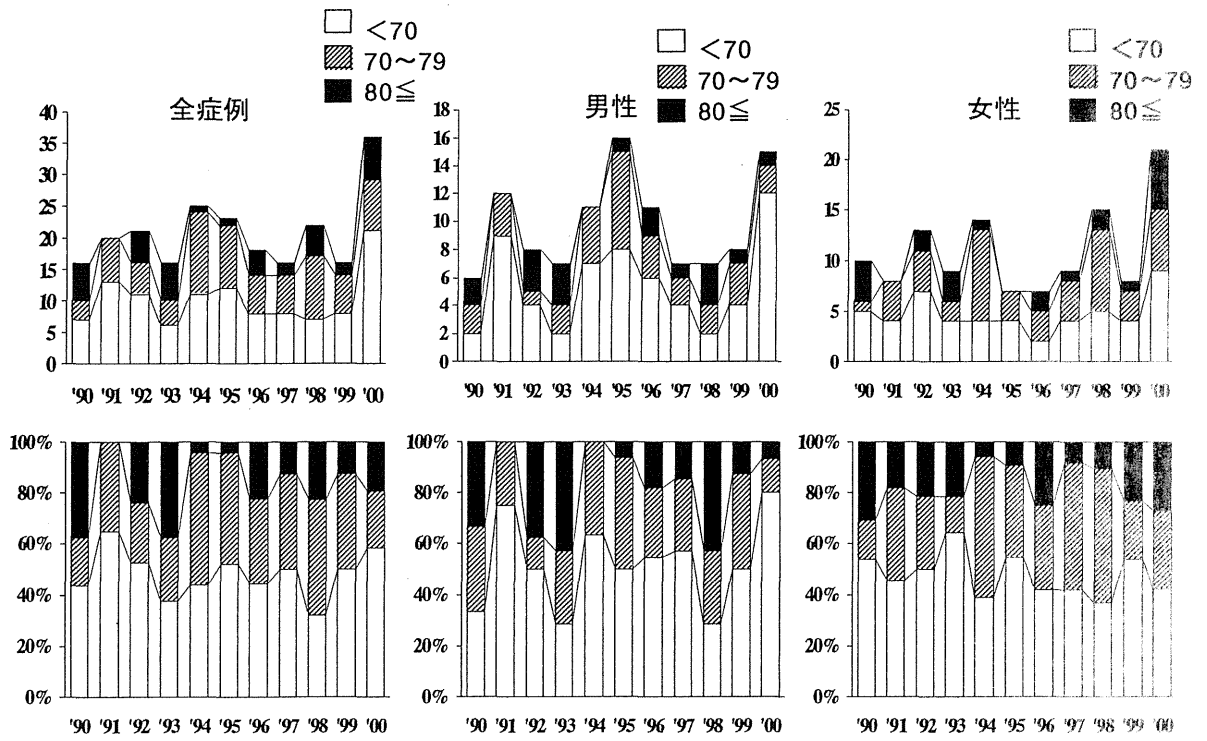


図9 年次別結腸癌手術症例

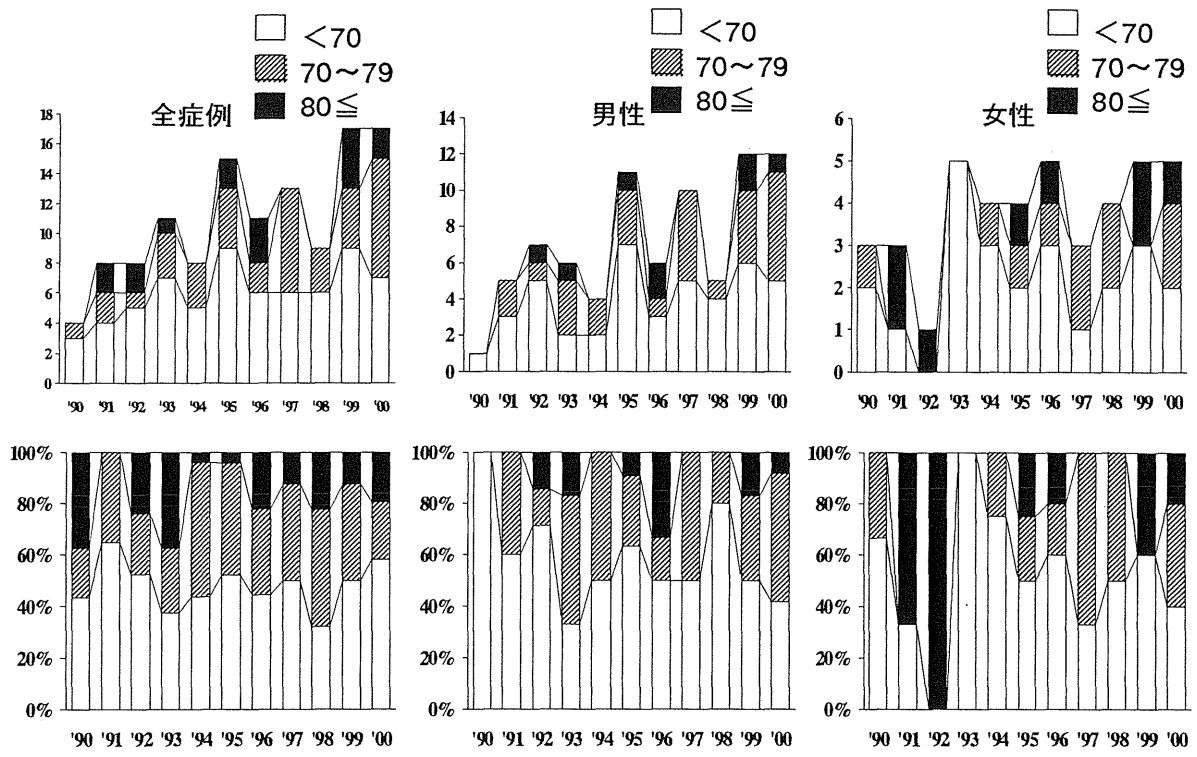


図 10 年次別直腸癌手術症例

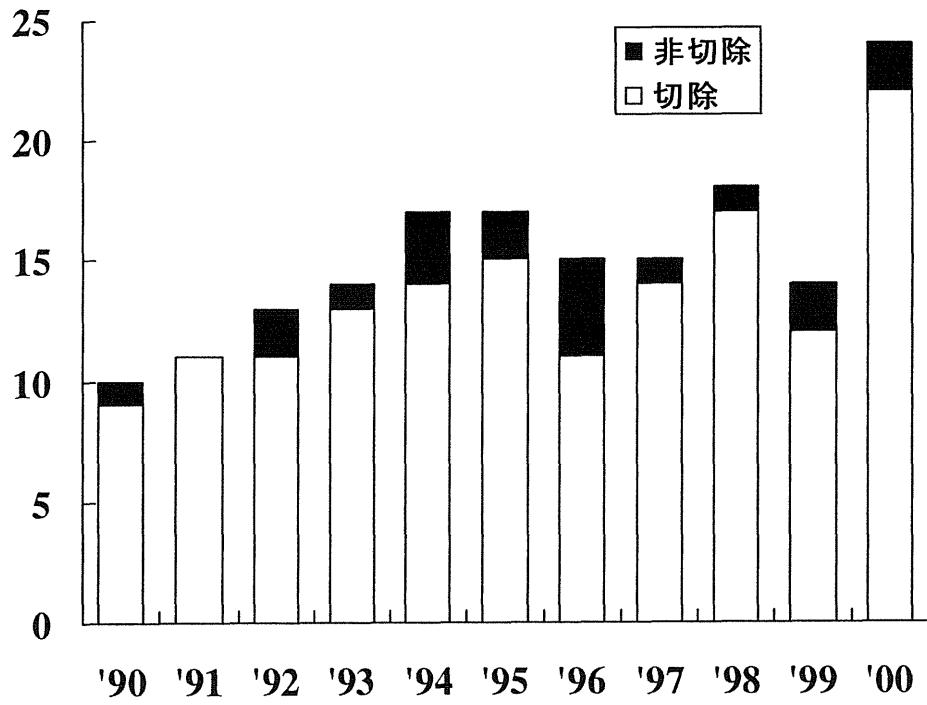


図 11 高齢者大腸癌の切除度

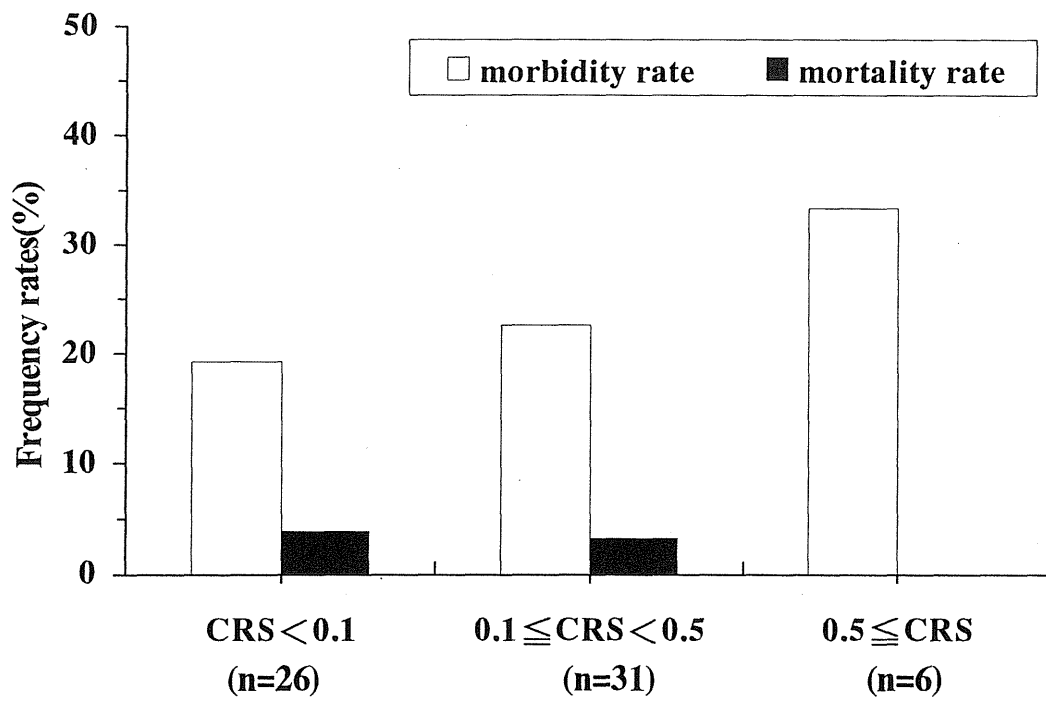


图 12 術後合併症発生率

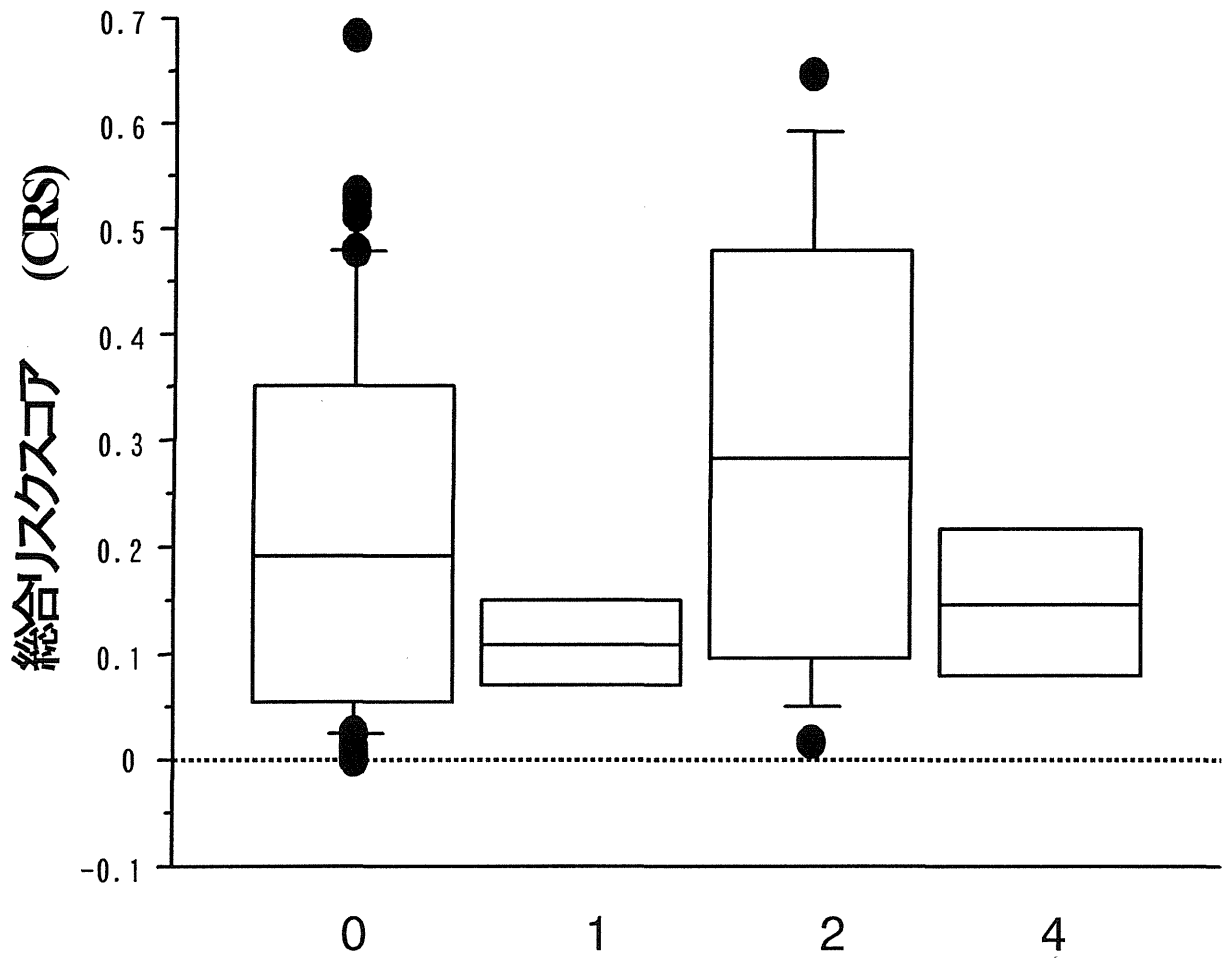


図13 術後合併症の重症度別総合リスクスコア(CRS)

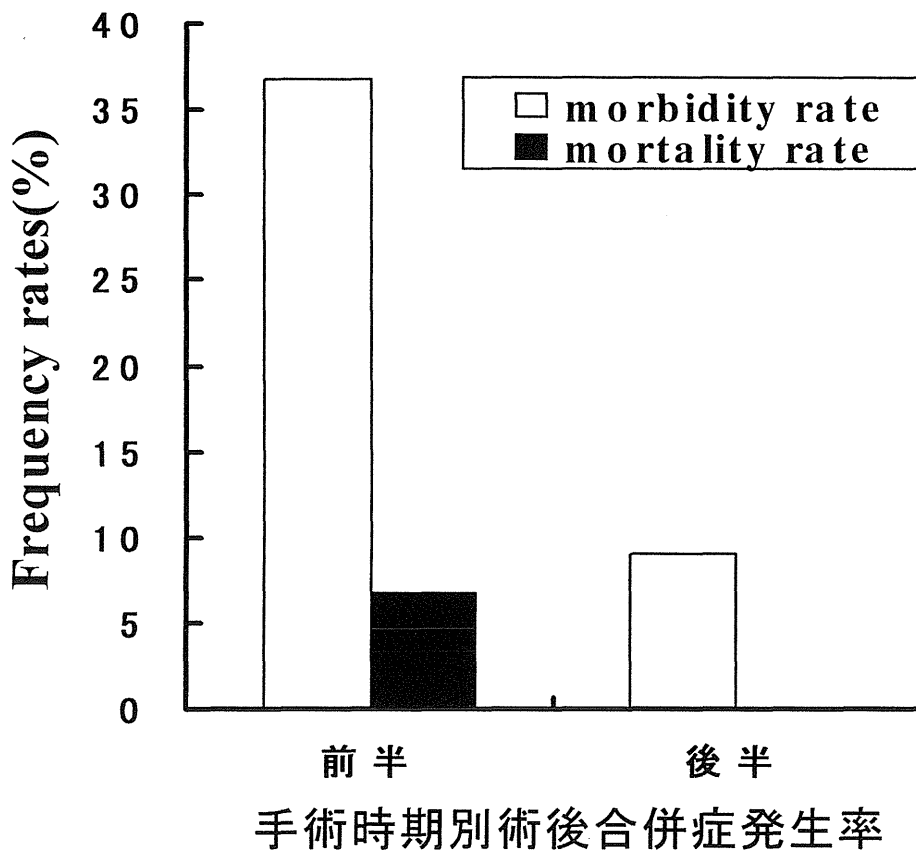
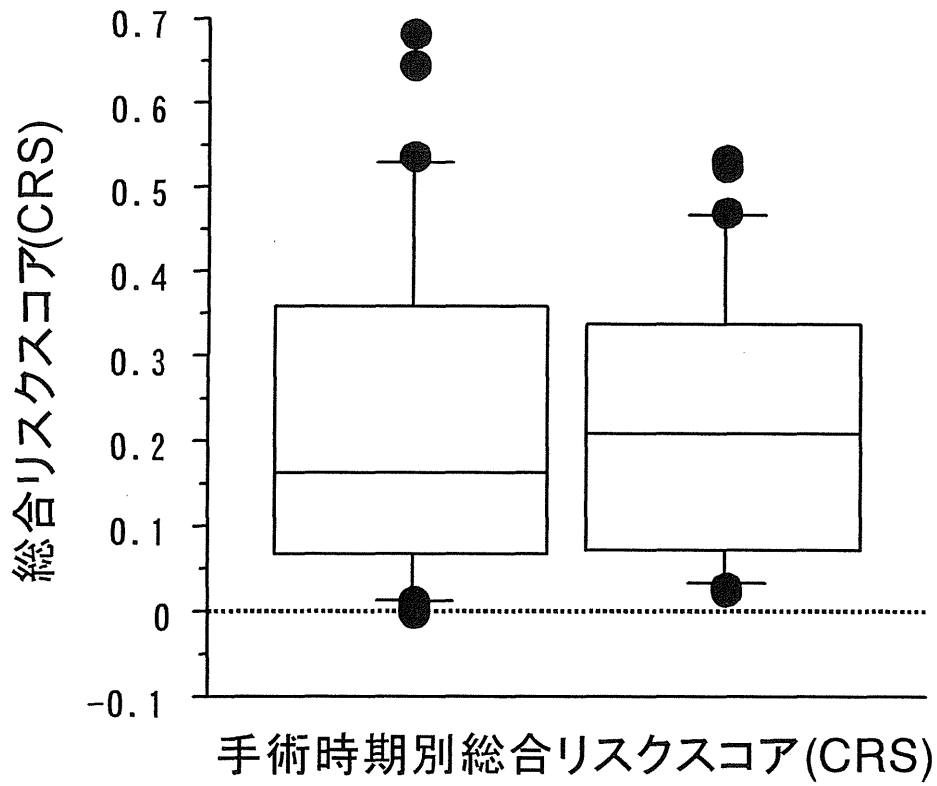


図14 手術時期別術後合併症発生

表3、術式別手術侵襲スコア(SSS)

	術式	SSS
胃癌手術	全摘	0.344
	噴門側切除	0.190
	幽門側切除	0.154
	分節切除	0.106
	楔状切除	0.069
	バイパス	0.078
大腸癌手術	低位前方切除	0.286
	高位前方切除	0.158
	右半切除	0.115
	部分切除	0.138
	バイパス	0.104
	腹腔鏡補助下右半切除	-0.200

研究要旨

p53 遺伝子はヒトの癌において最も高頻度にその異常が認められている遺伝子であり、その産物である p53 蛋白は転写因子として様々な遺伝子の発現に関与することにより細胞の増殖やアポトーシスに深く関わっていることが知られている。今回我々は p53 の下流に存在しアポトーシスの直接のメディエーターとして新しくクローニングされた遺伝子である p53AIP1 の肺癌における発現に関して検討を行った。また種々の癌で発現しているアポトーシス抑制遺伝子である survivin の発現を調べ、その相関について検討を行った。年齢、T 因子、N 因子、stage 別では明らかな発現の違いは認められなかったが、扁平上皮癌では腺癌と比較して p53AIP1 の高発現が認められた。また p53AIP1 の発現低下症例および survivin の発現が高い症例が予後不良の傾向が示された。P53AIP1 および survivin は今後の治療における有効なマーカーとなりうるかもしれない。

A. 研究目的

p53 遺伝子はヒトの癌において最も高頻度にその異常が認められている遺伝子であり、その産物である p53 蛋白は転写因子として様々な遺伝子の発現に関与することにより細胞の増殖やアポトーシスに深く関わっていることが知られている。今回我々は p53 の下流に存在しアポトーシスの直接のメディエーターとして新しくクローニングされた遺伝子である p53AIP1¹⁾の肺癌における発現に関して検討を行った。また種々の癌で発現しているアポトーシス抑制遺伝子である survivin²⁾の発現を調べその相関について検討を行った。また高齢者においてこれらの発現に差があるかどうかを検討した。

B. 材料と方法

材料：1997年4月から2001年12月国立熊本病院外科において切除された原発性肺癌

49例を対象とした。手術によって摘出された標本を直ちに-80℃に凍結保存して遺伝子解析に用いた。

方法：検体はAGPC法によってtotalRNA抽出後、reverse transcriptionを行った。

p53AIP1、survivin 遺伝子特異的プライマーおよびプローブを用いてリアルタイムPCR法により転写産物量を定量した。(図1 a, b) なお p53AIP1 については各 transcription variants に対してすべてを検出するように exon1-exon2 内に primer および TaqMan probe を設計した。測定値は Comparative Ct Method に準じ算出した。サンプル間の補正には GAPDH 遺伝子を用いた。

p53AIP1 の発現は正常肺組織の発現を基準値 1.0 として算出し、1.0 以上を高値、1.0 未満を低値とした。Survivin は K562 細胞の発現を基準とし正常肺組織と癌組織の比 (survivin-R) で算出した。この比が 1.0 以

上を高値、1.0未満を低値とした。統計学的には Mann-Whitney U test により 2 群間の差を検定し、生存曲線は Kaplan-Meier 法に基づき検定を行った。P<0.05 を有意差ありと判定した。

C. 結果

原発性肺癌49例の患者背景を表1に示した。性別は男性34例、女性15例で年齢は37～79歳で平均年齢は67.5歳であった。組織型は腺癌29例、扁平上皮癌16例、腺扁平上皮癌、大細胞癌、絨毛癌、小細胞癌各1例であった。術式は胸腔鏡下（以下 VATS）肺部分切除10例、VATS 肺葉切除19例、開胸肺葉切除16例、開胸2葉切除3例、開胸肺全摘1例であった。T 因子別では T1 29例、T2 17例、T3 2例、N 因子別では N0 27例、N1 7例、N2 6例、不明9例であった。病理病期は Ia 29例、Ib 4例、II a 4例、II b 2例、III a 9例、不明1例であった。

実際の RT-PCR の増幅産物を図2に示す。70歳以上の高齢者と70歳未満の非高齢者の間で p53AIP1, および survivin の発現には差は認められなかった。T 因子別では各群間で両者の発現に差は認められなかった。(図3 a) またN 因子ではリンパ節転移陰性例と陽性例の間に p53AIP1, および survivin 共に有意差は認められなかった。

(図3 b) さらに病理病期別の検討でも survivin 遺伝子の発現に関して有意差を認めなかったが、p53AIP1 では stage Ia と Ib の間にのみ有意差が認められた(図3 c)。しかしながら組織型別の p53AIP1, および survivin の発現に関しては survivin に関しては有意差は認められないものの p53AIP1 では腺癌で 53.4 と扁平上皮癌の 1618.8 に対し有意に発現低下が認められた(図3 d)。

p53AIP1, および survivin の発現に関して

相関関係を検討したところ相関は認められなかった。

p53AIP1, および survivin の発現によって生存率に差があるかどうかを調べたところ、有意差は無いものの正常組織に対する腫瘍組織の survivin の発現の比 (survivin-R) で見た値が高値を示すもの(図4 a) および p53AIP1 が低発現の症例(図4 b)で予後不良の傾向が認められた。

D. 考察

p53AIP1, および survivin 遺伝子はそれぞれアポトーシスを誘導および抑制することが知られている。今回我々は肺癌組織のそれぞれの遺伝子発現を検討した。これまでの報告では肺癌組織中の p53AIP1 の発現に関するものはみられていない。今回の我々の報告が p53AIP1 に関しての初めてのものであるが、p53AIP1 には3つの isotype が存在しその機能に関しては明らかになっていない。われわれの今回の検討には3種類すべての発現を検出できるような primer 設定としたが、個々の発現に関しても別個に検討しその役割についても検討すべきであろう。p53AIP1 は p53 の下流に存在しアポトーシスを誘導するがこれは紫外線、ガンマ線、抗癌剤などによる DNA 損傷によって p53 依存性にその発現が誘導されることが知られているが、今回の検討では高発現の症例が何らかの誘因によって誘導されたために発現が高かったのかあるいは定常時でも過剰発現しているかははっきりしない。しかしながらいずれの症例も術前放射線治療や抗癌剤治療は受けておらず腫瘍自体が何らかの目的で過剰発現となっていたものと考えられる。また p53 の発現の有無に関しては検討しておらず p53 の発現状態との相関で正または負の feed back によって発現が調整されている可能性は否定できない。今後の検討課題としてとっておきたい。組織型におい

て扁平上皮癌では腺癌と比較して有意に発現が高かったが、これは扁平上皮癌において放射線感受性および抗癌剤感受性が腺癌よりわずかに高いことと関連して考えると興味深い結果であるかもしれない。T因子、N因子共に発現に差はみられなかったが、病理病期別で stage Ia と Ib 間で有意差が認められた。今後症例数を増やすことによってさらなる検討が必要である。

また survivin に関しては各種癌組織において RT-PCR や免疫組織染色を用いて発現が確認されており、肺癌においても非小細胞性肺癌の約 86% に発現が認められたとの報告がある。さらに survivin 陽性例では陰性例に比べ有意に予後不良であったとしている。これは大腸癌においても同様の結果が得られている。しかしながら乳癌においては陽性例と陰性例の間に有意差は無かったとされており、今回の我々の検討でも有意差は認められなかった。これは症例数が 49 例と少なかつたこと、正常組織でも survivin の発現が認められたため腫瘍組織 survivin/正常組織 survivin として ratio で表したため有意差として現れにくかつたことが考えられる。さらに症例数を増やして検討を加える必要があると思われた。

p53AIP1 と survivin との間の相関関係は認められなかったが、このことは survivin と p53 との間に相関が無かつたという報告⁹⁾もあり妥当であつたと思われる。Survivin は乳癌においては bcl-2 との相関が認められているが今回われわれは肺癌に関しては検討を行っていない。

肺癌における p53AIP1 と survivin の発現について検討をおこなつたが、これはアポトーシスを誘導と阻害という相反する遺伝子を検索することによって発現のパターンに関連が見られないか、さらに放射線や抗癌剤などの種々の治療によりアポトーシスを起こしやすい症例、すなわち治癒しやすい症例を選

択できないかという目的もあつて行つたものである。残念ながら明らかな選別のマーカーとすることはできなかったが今後の検討によりさらに詳細なオーダーメイド治療へと発展していくことを期待したい。

参考文献

- 1: Costanzo A, Merlo P, Pediconi N, et al. DNA Damage-Dependent Acetylation of p73 Dictates the Selective Activation of Apoptotic Target Genes. *Mol Cell*. 2002 Jan;9(1):175-86.
- 2: Yamaguchi T, Matsuda K, Sagiya Y, et al. p53R2-dependent pathway for DNA synthesis in a p53-regulated cell cycle checkpoint. *Cancer Res*. 2001 Nov 15;61(22):8256-62.
- 3: Okamura S, Arakawa H, Tanaka T et al. p53DINP1, a p53-inducible gene, regulates p53-dependent apoptosis. *Mol Cell*. 2001 Jul;8(1):85-94.
- 4: Oda K, Arakawa H, Tanaka T, et al. p53AIP1, a potential mediator of p53-dependent apoptosis, and its regulation by Ser-46-phosphorylated p53. *Cell*. 2000 Sep 15;102(6):849-62.
- 5: Mariano M, Rosell R, Felip E, et al. A novel anti-apoptosis gene: re-expression of surviving messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J. Clin Oncol*. 1999 17(7) : 2100-2104
- 6: Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, et al. Expression of surviving and its relationship to loss of apoptosis in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2000 Jan Vol 1.6 :127-134
- 7: Sarela AI, Macadam RCA, Farmery S M, et al. Expression of the antiapoptosis gene, surviving, predicts death from recurrent colorectal carcinoma. *Gut*

2000; 46:645-650.

E. 結論

- 1) 扁平上皮癌では腺癌に比べてp53AIP1の高発現を認めた。
- 2) Survivinの発現の高いものが予後不良の傾向があった。
- 3) p53AIP1とsurvivinの間には相関関係は認められなかった。
- 4) 高齢者と非高齢者ではこれらの遺伝子発現において差は認められなかった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

山下真一： EBMに基づく高齢者乳癌外科治療ガイドライン 国立熊本病院学会雑誌 2002; 2: 27-31

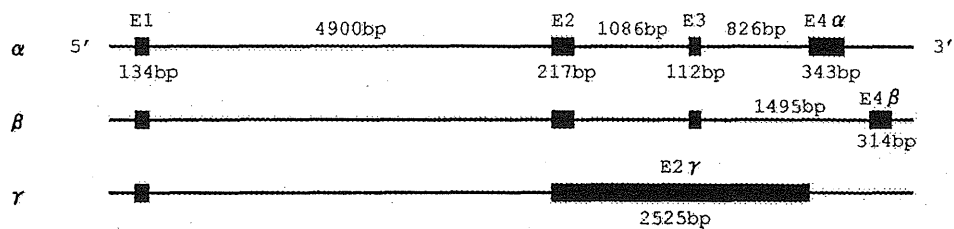
2. 学会発表

- 1) 山下 真一他 PCPS、Cardiopumpおよび分娩用吸引器大を用い手切除し得た縦隔巨大胚細胞腫の1例量 第 回 日本呼吸器外科学会 2001/5/8 東京都
- 2) 山下 真一他 胸腔鏡下に切除し得た血友病Bを伴った犬糸状虫症の一例 第34回日本胸部外科学会九州地方会 2001/8/3 大分市
- 3) 山下 真一他 呼吸器外科手術における新しい手術リスク評価法E-PASSの検討 第 回胸部外科学会 2001/10/3 大阪市

H. 知的財産権の出願・登録状況： なし

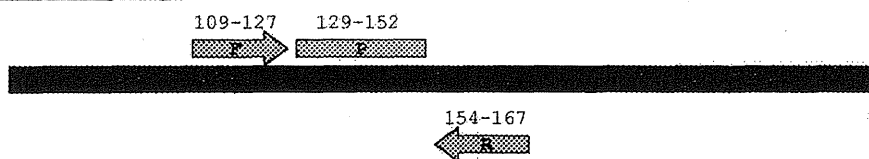
図1a

Subtypes of P53AIP1 transcript



Cell, Vol. 102, 849-862 (2000) より引用(一部改変)

Primers and TaqMan probe



Forward primer (F) 5'-cggaccctccgactcctag-3'
 Reverse primer (R) 5'-cttggcttctcctcatttgtgt-3'
 TaqMan probe (P) 5'-aggca^gtcccttagggactggccc-3'
 ^:E1-E2 junction

Oligonucleotide sequences and positions are based on the sequence of p53AIP1 α mRNA (Accession No. AB045830)