

**F-1** 肺癌培養細胞における 20 番染色体上の遺伝子変異の検討  
 東京医科大学八王子医療センター胸部外科<sup>1)</sup>，東京医科大学外科第一講座<sup>2)</sup>  
 ○平栗俊介<sup>1)</sup>，平良 修<sup>1)</sup>，三浦弘之<sup>1)</sup>，平田剛史<sup>1)</sup>，中村治彦<sup>2)</sup>，斎藤 誠<sup>2)</sup>，河手典彦<sup>2)</sup>，小中千守<sup>2)</sup>，加藤治文<sup>2)</sup>

【背景】我々はこれまで，肺癌切除症例における P1-DNA プローブを用いた Fluorescent in-situ hybridization (FISH) による分析で，SRC tyrosine kinase family に属する FGR 遺伝子，Mut-S ミスマッチ修復因子の MSH2 遺伝子，retinoblastoma 関連の RB-1 遺伝子，乳癌関連の BRCA-2 遺伝子，細胞間接着分子の E-cadherin 遺伝子などに遺伝子コピー数の変異が認められることを報告してきた。今回これらの中で，新規抗癌剤として注目される Topoisomerase-I inhibitor に関連して，Topoisomerase-I 遺伝子 (20q12) とその遺伝子座の存在する 20 番染色体に着目し，肺癌培養細胞株を用いてその遺伝子発現を検討してみた。

【方法・対象】肺癌培養細胞株は小細胞癌 5 種類，非小細胞癌 5 種類の計 10 種類で，いずれも裸核処理，カルノア固定の後，FISH による分析を行なった。

【結果・考察】いくつかの肺癌培養細胞株の分裂期染色体の FISH で，20 番染色体の repetitive DNA probe: CEP20 の FISH シグナルの分離が認められ，20 番染色体自体の分離，転位が示唆され，また Topoisomerase-I 遺伝子の一部の転座も示された。肺癌細胞での Topoisomerase-I の遺伝子コピー数は，著しく増幅しているもの，変化のないものが認められたが，これらの遺伝子コピー数の差が，新規抗癌剤 Topoisomerase-I inhibitor の治療効果と関連があるかは，今後の検討課題とされた。

**F-3** 肺癌組織における新生血管因子の増加 (cDNA マクロアレイ法を用いて)  
 国立がんセンター研究所薬効試験部<sup>1)</sup>，国立がんセンター病院内科<sup>2)</sup>，東京医科大学第一外科<sup>3)</sup>  
 ○芥川 茂<sup>1)</sup>，中村 貴<sup>1)</sup>，大平達夫<sup>3)</sup>，臼田実男<sup>3)</sup>，平野隆<sup>3)</sup>，坪井正博<sup>3)</sup>，洪 泰浩<sup>1)</sup>，清水美貴子<sup>1)</sup>，巽 康彰<sup>1)</sup>，小中千守<sup>3)</sup>，西條長宏<sup>2)</sup>，加藤治文<sup>3)</sup>，西尾和人<sup>1)</sup>

【目的】肺癌患者の癌組織と正常組織間の遺伝子発現を比較検討する。

【方法】術前にシスプラチンを含む化学療法をうけ葉切除施行された肺癌患者の切除肺の癌組織と正常組織より，RNA を抽出し，cDNA マクロアレイを用いて 588 個の既知遺伝子の発現を比較した。

【結果】化学療法後のがん組織において，FGFR3，MMP15，16，10 などの血管新生にかかわる遺伝子，integrin  $\beta 4, \alpha 9$ ，endoxin，collagen などの接着分子にかかわる遺伝子の発現は増加していた。遺伝子のクラスタリングによりこれらの血管新生関連遺伝子群は発現のプロファイルにより大きく 3 つのグループに分類することができた。一方，サンプル間のクラスタリングから同一患者間の遺伝子発現プロファイルは，患者の正常組織とがん組織間の発現パターンに比し差異が大きく認められた。

【考察】肺がん患者における血管新生阻害剤に対する治療反応性が予測される。クラスタリングにより発現様式の類似から血管因子を 3 群に分類することができる。同法は治療ターゲットや，細胞内シグナル伝達の予測に有用であると考えられた。患者間の発現パターンの差異は，患者に応じた治療の必要性を示唆すると考えられた。

**F-2** Comparative genomic hybridization 法を用いた肺扁平上皮癌の染色体異常の解析  
 大分医科大学第 2 外科<sup>1)</sup>，大分県厚生連鶴見病院胸部外科<sup>2)</sup>，長崎大学医療技術短期大学部<sup>3)</sup>  
 ○中城正夫<sup>1)</sup>，野口 剛<sup>1)</sup>，三浦 隆<sup>1)</sup>，在永光行<sup>1)</sup>，内田雄三<sup>1)</sup>，田中康一<sup>2)</sup>，田川 泰<sup>3)</sup>

【背景】固形腫瘍におけるゲノム異常の解析は，多形性マーカーにより LOH の有無を検出し染色体欠失領域を探す方法が主に用いられているが，腫瘍に生じるゲノム変化は欠失だけでなく，染色体の過剰や増幅も相当に高い頻度で起きていると考えられる。Comparative genomic hybridization (以下 CGH) 法は，FISH 法の特長を利用したゲノム異常の解析手法の一つで，全染色体上で腫瘍に生じた染色体もしくは染色体の一部の増加や欠失を検出する方法である。【目的】CGH 法を用いて，肺扁平上皮癌の染色体異常の解析を行う。【対象】外科的切除を行った肺原発扁平上皮癌 31 例を対象に解析を行った。【方法】外科的切除された癌組織の一部から腫瘍 DNA を，健康人の末梢血リンパ球から正常 DNA を抽出し，それぞれ異なる蛍光色素で標識し，正常男性分裂期染色体に 2~5 日間 Hybridization を行った後，専用のソフトウェアを用いて解析を行った。1 症例あたり 7 個以上の分裂期染色体を解析。蛍光強度比 1.25 以上となった領域を gain，0.75 以下を loss，1.5 以上を amplification と判定した。【結果】全例になんらかの染色体の数的異常を認め，異常染色体座位数は 2~30 カ所，平均 7.9 カ所であった。gain は，3q (71.0%)，5p (61.3%)，8q などに認め，5 例に 3q26.1-qter を共通領域とする amplification を認めた。一方 loss は，16p,5q,8p などに認めた。【まとめ】CGH 法により，肺扁平上皮癌において多数の染色体の数的異常が認められた。高頻度に gain を認めた 3q,5p の領域に，肺扁平上皮癌の発生，進展に関係する遺伝子の存在が強く疑われる。

**F-4** IV 期肺癌における 8 番染色体短腕および 3 番染色体短腕のアレル欠失の検討  
 日本医科大学第 4 内科  
 ○栗本太嗣，弦間昭彦，竹中 圭，清家正博，清家曜子，植松和嗣，吉村明修，胡雪君，渋谷昌彦，工藤翔二

【背景】原発性肺癌は，遺伝子異常の蓄積により生じると報告されている。アレルの欠失が多く領域で存在し，その領域に癌抑制遺伝子が存在する可能性が示唆されている。この領域の中で 3 番染色体短腕と 8 番染色体短腕の欠失は頻度の高いものと報告されている。今回我々は，肺癌におけるこれら領域の欠失の頻度を分析する事により，肺癌発生に関わる役割を検討するとともに，IV 期肺癌を選択することにより，原発巣と転移巣を比較し，増殖過程における変化を検討した。【方法・対象】遠隔転移を有する原発性肺癌 30 例の剖検材料より得られた原発巣，転移巣，正常肺組織を用いた。マイクロサテライトマーカーとして D3S1300，D3S1234，D3S1313，D3S1295，D3S1351，D3S1339，D3S1340，D8S1130，D8S1106，D8S511，D8S1827，D8S549，D8S261，LPL，D8S258，D8S136，NEFL を用い，PCR 法にて LOH 解析を行った。【結果】LOH は FHT 領域での 7/19 (36.8%)，その他の 3 番染色体短腕では 7/25 (28%)，8 番染色体短腕では 12/21 (57.1%) と高率に認められた。3 番染色体の欠失は 3 番短腕の欠失以上に高頻度に認められ，肺癌の発生増殖に深く関わっていることが示唆された。3 番短腕の欠失は早期に起こる異常で，腫瘍の増殖，転移過程において，この異常は新たに生じなかった。8 番短腕については現在検討中である。