

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790250

研究課題名 (和文) 悪性中皮腫における分子生物学的遺伝子変異と病理組織像の総合的解析

研究課題名 (英文) Analysis of amplification and overexpression of EGFR, Her2/neu in malignant pleural mesothelioma

研究代表者

米盛 葉子 ( YONEMORI YOKO )

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：10422247

研究成果の概要 (和文)：悪性中皮腫の手術症例 17 例に対して各種受容体 (EGFR, Her2/neu, の遺伝子増幅発現の有無と免疫染色を行い蛋白過剰発現の有無と程度をみたが、遺伝子増幅発現を共に認めず、蛋白過剰発現の程度との相関関係も認めなかった。

研究成果の概要 (英文)：Overexpression of the EGFR proteins and ErbB-2 proteins were examined by immunohistochemistry in seventeen malignant pleural mesothelioma. Overexpression of ErbB-2 was found in 11.7% of tumors and was not associated with gene amplification. Overexpression of EGFR was found in 5.8% of tumors and was not associated with gene amplification.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	1,700,000	0	1,700,000
20 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	390,000	3,390,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人体病理学

キーワード：呼吸器

## 1. 研究開始当初の背景

悪性胸膜中皮腫は比較的稀な腫瘍であったが、発症してから急激に進行し死亡にいたるため、診断、治療に難渋している疾患である。近年本邦を含め世界的にも、患者数は増加傾向をたどっており、その対策は社会的に

も急務である。

現状としてその治療は、切除可能症例は外科的切除を実施するが、大部分が切除不能症例であるため、全身化学療法が実施される。しかしながら、従来の抗がん剤などの化学療

法に不応性のため予後は極めて不良であり、現在、新規開発された分子標的治療薬や抗体療法などの治療法などが期待されている。

分子標的治療薬や抗体療法は、腫瘍などに高く発現している分子を標的として、人工的にデザインされた治療薬である。臨床では、**gefitinib, trastuzumab, rituximab, imatinib, bevacizumab, erlotinib** などが導入され、それぞれの癌種において非常に高い治療効果を認めている。実際の各治療薬の効果予測の検討では、蛋白過剰発現、それを制御する遺伝子の増幅の有無、遺伝子の変異の有無、民族間差など多岐にわたる報告があり、未だ確立されたものはない。

今後、日本人の悪性胸膜中皮腫患者を対象にこれら分子標的治療薬、抗体療法を用いた臨床試験を実施するためには、日本人における本腫瘍における各標的分子の発現の頻度、他癌腫で治療効果予測に関して報告されている遺伝子変異、遺伝子増幅などについての検索が必須であると考えた。

## 2. 研究の目的

手術にて摘出された悪性中皮腫標本を用いて、期間内に下記の項目を明らかにする。

各種受容体 (EGFR, Her2/neu, の遺伝子増幅発現の有無

EGFR, Her2/neu の免疫染色を行い蛋白過剰発現の有無と程度をみる。

## 3. 研究の方法

1. サンプルの抽出: 千葉胸膜腫瘍研究会 (千葉労災病院、千葉大学大学病院など) 複数施設にて1987年度から現在までに病理学的にびまん性悪性胸膜中皮種と診断された24例の切除標本のパラフィン包埋組織を使用した。

2. 遺伝子増幅の判定: 各種受容体 (EGFR, Her2/neu) の遺伝子増幅をFISH法 (Fluorescence in situ hybridization) により判定。具

体的には、HER2の場合ホルマリン固定パラフィン包埋した癌組織の遺伝子を二種類の蛍光標識プローブ (17番染色体のセントロメアおよび同じ17番染色体上にあるHER2 遺伝子を認識) と固定化した染色体上のターゲットDNAをハイブリダイゼーションさせた後、蛍光顕微鏡下でHER2遺伝子の増幅度をパスビジョン (米国abbott laboratories) を用いてFISHにより判定した。EGFRの場合もHER2と同様の方法で行った (ただし7番染色体のセントロメアプローブを使用)。互いに重なっていない腫瘍細胞の核20個につきHER2とCEP17のシグナル数を計測した。

## 4. 研究成果

結果: HER2/CEP17比は平均1.233であった (N=17, range0.875-1.781)。通常2.0以上を増幅と判断するので増幅はないと考える。また、EGFRの場合EGFR/CEP7比は平均0.998であった (N=18, range0.821-1.075)。EGFRも増幅がないと考える。一部の標本がFISH染色不可能であり判定できないものが含まれていて母集団が減ってしまったのは施設によって標本の固定条件が若干異なることが影響している可能性がある。HER2、EGFRとももう少し多くの症例を検討するべきであるが、両者とも増幅がない傾向であることが判明した。またそれらは免疫染色による蛋白過剰発現の程度とは相関しなかった。追加でc-METの増幅の有無を検討するために、様々なFISHプローブを制作して検討したが、蛍光染色の染色性が悪く観察が困難であり検討できなかった。中皮腫標本のホルマリン固定が長期間に渡っているものが多かったため、より染色性が悪かった原因の一つと思われる。今後同様の研究をする際には24時間前後の短時間のホルマリン固定標本を中心に集めることが重要と考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米盛 葉子 (YONEMORI YOKO)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号: 10422247

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者

( )

研究者番号:

