

平成 21 年 4 月 27 日現在

研究種目： 基盤研究(C)
 研究期間： 2006 ～ 2008
 課題番号： 18591851
 研究課題名(和文) 婦人科癌における遺伝子多型解析
 研究課題名(英文) Genetic Polymorphism in Gynecological Cancer
 研究代表者
 植田 政嗣 (Ueda Masatsugu)
 大阪医科大学・医学部・非常勤講師
 研究者番号： 50223467

研究成果の概要：癌は生まれながらの体質（遺伝素因）と病原体や生活習慣などの影響（環境因子）の両者が複雑に絡み合って生じる疾患である。我々は、婦人科癌患者から同意を得て採取した血液や細胞病理標本を用いて、癌の発症に関連する様々な遺伝子の個人差や発現異常を解析してきた。その結果、環境発癌物質解毒酵素や細胞増殖あるいは細胞死に関連する遺伝子の特定のタイプ（遺伝素因）が子宮癌や卵巣癌の発症に密接に関連することが判明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,200,000	0	1,200,000
2007 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	660,000	4,060,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：婦人科癌、遺伝子多型、発癌、浸潤・転移、アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム計画の完了とともに、各種疾病の原因遺伝子の特定やその機能解析が加速度的に進められており、様々な遺伝子診断や分子標的治療への展開が期待されている。個人による微妙な相違を遺伝子レベルで把握して、病気の罹り易さを判断したり、各個人にあわせた最良の治療を提供しようとするのがオーダーメイド医療であり、これを達成するための有力な手段として遺伝子多型解析が注目されている。ヒトゲノムDNAの塩基配列には人により若干の相違がある。遺伝子多型とは、あ

る塩基の変化が人口の1%以上の頻度で存在するものと定義されており、通常末梢血リンパ球DNAを用いて解析される。この塩基配列の微妙な相違は、1つの塩基が他の塩基に置換しているもの(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)、1～数十塩基の欠失や挿入、2～数十塩基の遺伝子配列の繰り返し回数などの形で現われる。これまでに高血圧、糖尿病などの生活習慣病、膠原病や癌などの慢性難治性疾患において、発症関連遺伝子のSNP解析が行われ、各疾患の予防や予後管理に役立つとされている。

2. 研究の目的

癌は生まれながらの体質（遺伝素因）と病原体や生活習慣などの影響（環境因子）の両者が複雑に絡み合って生じる疾患であるが、近年、宿主側因子として種々の発癌関連遺伝子多型の関与が注目されている。固形癌の発症関連遺伝子としては、環境発癌物質解毒酵素 glutathione-S-transferase (GST)、癌抑制遺伝子 p53、細胞増殖シグナル伝達因子 HER2、アポトーシス誘導因子 Fas が重要であり、特定の DNA 領域の欠失 (deletion) や SNP として検出される。本研究では、子宮頸癌、体癌、卵巣癌患者における GST、p53、HER2、Fas を標的とした遺伝子多型解析を行い、今後の癌発症予防や追跡管理あるいは個々の患者に応じた至適薬剤の投与など、婦人科癌における遺伝子診断や個別化医療に役立つ疫学的データを集積することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では末梢血リンパ球、細胞病理標本、培養細胞より抽出した DNA や RNA 検体を用いた遺伝子解析を中心に行った。GST isoform (GSTM1、GSTT1) の deletion は multiplex PCR 法で、p53 codon 72、HER2 codon 655、Fas promoter -670 の SNP は PCR-RFLP 法で解析した。また、genotyping の妥当性は SSCP 法や direct sequence で検証した。その後の研究の進展にともない、p53 阻害因子 MDM2、細胞増殖シグナル伝達因子 BRAF、アポトーシス阻害因子 survivin にも着目し、MDM2 SNP309 は two independent PCR assay 法、BRAF codon 599 の SNP は SSCP 法、さらに survivin splice variant の遺伝子発現を Light Cycler を用いた Real-Time PCR 法で解析した。

4. 研究成果

(1) GST (GSTM1、GSTT1) および p53 codon 72 遺伝子多型

GST は、環境発癌物質やプラチナ製剤の代謝酵素で、癌抑制遺伝子 p53 とともに発癌に密接に関与する。本研究では、まず子宮頸部擦過細胞におけるこれらの遺伝子多型を解析し、頸癌発生との関連性を検討した。正常 (control) 54、軽度扁平上皮内病変 (LSIL) 102、高度扁平上皮内病変 (HSIL) 42、計 198 症例の頸部擦過細胞診検体から常法により DNA を抽出し、multiplex-PCR により GST isoform (GSTT1、GSTM1)、PCR-RFLP により p53 codon 72 (Arg、Arg/Pro、Pro) の多型解析を行った (図 1、2)。また、L1 consensus PCR-RFLP により各細胞診検体の HPV 型を同定した。その結果、GSTT1 deletion (T1 null) の多型頻度は control、LSIL に対して HSIL で有意に高かった (表 1)。また、high risk HPV

陽性 69 例中で、T1 null の多型頻度は LSIL に比べて有意に高かった (表 2)。一方、p53 codon 72 遺伝子多型頻度は、high risk HPV 陰性 129 例、陽性 69 例の両群において各病変で有意差はなかった。

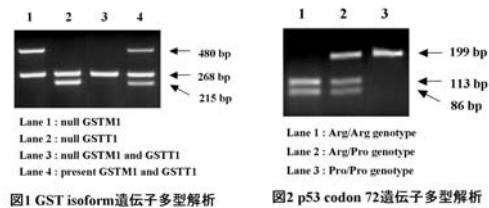


図1 GST isoform遺伝子多型解析

図2 p53 codon 72遺伝子多型解析

表1 子宮頸部擦過細胞DNAにおけるhigh-risk HPVならびに GSTおよびp53 codon 72遺伝子多型

Lesions	Number with high risk HPV	GSTM1 null	GSTT1 null	Aminoacid at p53 codon 72		
				Arg	Arg/Pro	Pro
Normal (n=54)	10 (18.5%) ^{ns}	28 (51.9%)	24 (44.4%) ^d	24 (44.4%)	23 (42.6%)	7 (13.0%)
LSIL (n=102)	28 (27.5%) ^b	55 (53.9%)	40 (39.2%) ^c	38 (37.3%)	40 (39.2%)	24 (23.5%)
HSIL (n=42)	31 (73.8%) ^{ab}	20 (47.6%)	29 (69.0%) ^{Ac}	18 (42.9%)	16 (38.1%)	8 (19.0%)
All SIL (n=144)	59 (41.0%)	75 (52.1%)	69 (47.9%)	56 (38.9%)	56 (38.9%)	32 (22.2%)

^aP < 0.0001, OR = 12.4^c vs normal^b P < 0.0001, OR = 7.4^c vs LSIL^b P = 0.0031, OR = 3.1^c vs normal, ^dP = 0.0162, OR = 2.8^c vs normal^b P = 0.0011, OR = 3.5^c vs LSIL^b.

表2 子宮頸部擦過細胞DNAにおけるhigh-risk HPVの有無別でのGSTおよびp53 codon 72遺伝子多型

Study group	n	GSTT1 null	Aminoacid at p53 codon 72	
			Arg	Arg/Pro + Pro
High-risk HPV -				
Normal	44	20 (45.5%)	20 (45.5%)	24 (54.5%)
LSIL	74	31 (41.9%)	26 (35.1%)	48 (64.9%)
HSIL	11	8 (72.7%)	4 (36.4%)	7 (63.6%)
All SIL	85	39 (45.9%)	30 (35.3%)	55 (64.7%)
High-risk HPV +				
Normal	10	4 (40.0%)	4 (40.0%)	6 (60.0%)
LSIL	28	9 (32.1%) ^a	12 (42.9%)	16 (57.1%)
HSIL	31	21 (67.7%) ^a	14 (45.2%)	17 (54.8%)
All SIL	59	30 (50.8%)	26 (44.1%)	33 (55.9%)

^aP = 0.0063, OR = 4.4^c vs LSIL^b.

次に、婦人科癌患者の germ line DNA を用いて同様に検討した。健常者 95、頸癌 83、体癌 108、卵巣癌 68 例より末梢血リンパ球を採取し、常法により genomic DNA を抽出した。multiplex-PCR および PCR-RFLP により各々 GST、p53 codon 72 の多型解析を行った結果、T1 null の多型頻度は頸癌で有意に高く (表 3)、p53 codon 72 Arg/Arg genotype は Arg/Pro + Prp/Pro に対して体癌発症リスクを有意に増加させた (表 4)。

表3 婦人科癌末梢血リンパ球DNAにおけるGST遺伝子多型

Category	Normal control (n=95)	Cervical cancer (n=83)	Endometrial cancer (n=108)	Ovarian cancer (n=68)
GSTM1-present	56 (58.9%)	42 (50.6%)	57 (52.8%)	30 (44.1%)
GSTM1-null	39 (41.1%)	41 (49.4%)	51 (47.2%)	38 (55.9%)
GSTT1-present	44 (46.3%)	25 (30.1%)	56 (51.9%)	27 (39.7%)
GSTT1-null	51 (53.7%) ^a	58 (69.9%) ^a	52 (48.1%)	41 (60.3%)

^aP = 0.0396^c vs normal

表4 p53 codon 72遺伝子型と子宮体癌発生リスク

p53 codon 72 polymorphism	Control subjects	Cancer patients	OR (95% CI)	P value
Genotype				
Arg/Pro + Pro/Pro	61 (64.2%)	53 (49.1%)	1.00 (referent)	
Arg/Arg	34 (35.8%)	55 (50.9%)	1.86 (1.06 to 3.26)	0.0301
Allele				
Pro	68 (35.8%)	61 (28.2%)	1.00 (referent)	
Arg	122 (64.2%)	155 (71.8%)	1.42 (0.93 to 1.52)	0.1031

以上から、GSTT1 遺伝子欠損は頸癌発生に、p53 codon 72 Arg/Arg homozygote は体癌発生に密接に関与することが示唆された。

(2) HER2 codon 655 遺伝子多型

HER2 (c-erbB-2/neu) 遺伝子の codon 655 には SNP (G to A / Ile to Val) が存在し、Val allele は HER2 の膜通過ドメインの構造変化を惹起し各種臓器癌の発生・進展に関与する可能性がある。そこで、子宮頸部擦過細胞を用いて HER2 codon 655 の遺伝子多型解析を行い、頸癌発生との関連性を検討した。control 63、LSIL 167、HSIL 49、計 279 症例の頸部擦過細胞診検体から DNA を抽出し、PCR-RFLP により HER2 codon655 の多型解析 (Ile/Ile, Ile/Val, Val/Val) を行った (図 3)。また、L1 consensus PCR-RFLP により各細胞診検体の HPV 型を同定した。その結果、High risk HPV の検出頻度は control、LSIL に対し HSIL で高値を示したが、HER2 codon 655 遺伝子多型頻度は各病変で大差なかった (表 5)。一方、HER2 codon 655 の遺伝子型を Ile/Ile と Ile/Val + Val/Val に分けて比較した場合にも、high risk HPV 陰性 183 例、陽性 96 例の両群において各病変で有意差はなかった (表 6)。頸部擦過細胞 DNA における HER2 codon 655 の SNP と HPV 感染や頸癌発生との明らかな関連性は見い出されなかった。

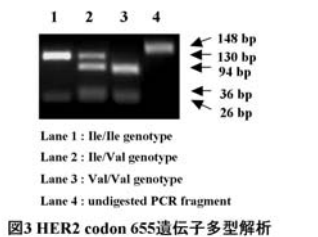


表5 子宮頸部擦過細胞DNAにおけるhigh-risk HPVならびに HER2 codon 655遺伝子多型

Lesions	n	Number with high-risk HPV	Aminoacid at HER2 codon 655		
			Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val
Normal	63	10 (15.9%) ^{ab}	46 (73.0%)	16 (25.4%)	1 (1.6%)
LSIL	167	46 (27.5%) ^b	123 (73.7%)	38 (22.8%)	6 (3.6%)
HSIL	49	35 (71.4%) ^{ab}	35 (71.4%)	14 (28.6%)	0 (0%)
All SIL	216	81 (37.5%)	158 (73.1%)	52 (24.1%)	6 (2.8%)

^aP < 0.0001, χ^2 vs normal; ^bP < 0.0001, χ^2 vs LSIL; ^cP = 0.0013, χ^2 vs normal

表6 子宮頸部擦過細胞DNAにおけるhigh-risk HPVの有無別での HER2 codon 655遺伝子多型

Study group	n	Aminoacid at HER2 codon 655		OR	95% CI	P value
		Ile/Ile	Ile/Val + Val/Val			
High-risk HPV -						
Normal	53	38 (71.7%)	15 (28.3%)	1		
LSIL	121	94 (77.7%)	27 (22.3%)	0.728	0.350 - 1.514	0.396
HSIL	14	11 (78.6%)	3 (21.4%)	0.691	0.170 - 2.814	0.606
All SIL	135	105 (77.8%)	30 (22.2%)	0.724	0.352 - 1.487	0.379
High-risk HPV +						
Normal	10	8 (80.0%)	2 (20.0%)	1		
LSIL	46	29 (63.0%)	17 (37.0%)	2.345	0.461 - 11.930	0.305
HSIL	35	24 (68.6%)	11 (31.4%)	1.833	0.339 - 9.911	0.482
All SIL	81	53 (65.4%)	28 (34.6%)	2.113	0.433 - 10.315	0.355

(3) Fas promoter -670 遺伝子多型

アポトーシスの誘導に重要な役割を果たす Fas 遺伝子の promoter 領域 (-670) には SNP (A/G) が存在し、G allele は同遺伝子の転写活性を著しく抑制する (図 4)。

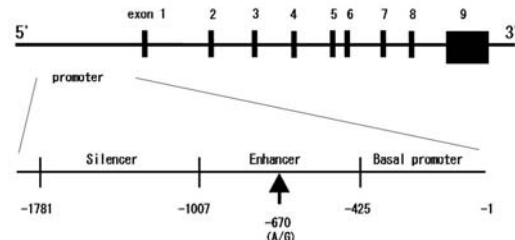


図4 Fas 遺伝子の構造と転写調節

Fas 遺伝子発現の低下によるアポトーシス抵抗性は種々の癌腫で報告されており、この SNP は頸癌発生とも関連する可能性がある。そこで、子宮頸部擦過細胞を用いて Fas promoter -670 の遺伝子多型解析を行い、HPV 感染や臨床像と対比検討した。control 63、LSIL 167、HSIL 49、計 279 症例の頸部擦過細胞診検体から DNA を抽出し、PCR-RFLP により Fas promoter -670 の多型解析 (AA, GA, GG) を行った (図 5)。また、L1 consensus PCR-RFLP により各細胞診検体の HPV 型を同定した。採取検体の Fas promoter -670 の SNP を AA と GA+GG に分けて比較すると、GA+GG の多型頻度と G allele 頻度は control や LSIL に対して HSIL で有意に高かった (表 7)。一方、high risk HPV 陽性 96 例中で、GA+GG genotype は control に比べて HSIL の危険率を有意に増加させた (表 8)。

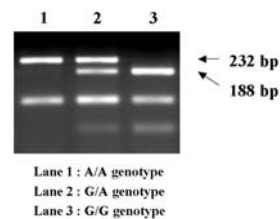


図5 Fas promoter -670遺伝子多型解析

表7 子宮頸部擦過細胞診検体DNAにおけるhigh-risk HPVおよびFas promoter -670遺伝子多型頻度

Lesions	Number with high-risk HPV	Genotype frequency		Allele frequency	
		AA	GA + GG	A	G
Normal (n=63)	10 (15.9%) [†]	19 (30.2%)	44 (69.8%) [†]	67 (53.2%)	59 (46.8%) [†]
LSIL (n=167)	46 (27.5%) [†]	51 (30.5%)	116 (69.5%) [†]	165 (49.4%)	169 (50.6%) [†]
HSIL (n=49)	40 (81.6%) ^{‡,§}	5 (10.2%)	44 (89.8%) ^{‡,§}	37 (37.8%)	61 (62.2%) ^{‡,§}

[†] P < 0.0001 χ^2 vs normal[‡] P < 0.0001 χ^2 vs LSIL.
[§] P = 0.0197 χ^2 vs normal[¶] P = 0.0043 χ^2 vs LSIL.
^{||} P = 0.0217 χ^2 vs normal^{|||} P = 0.0422 χ^2 vs LSIL.

表8 子宮頸部擦過細胞診検体DNAにおけるhigh-risk HPVの有無別でのFas promoter -670遺伝子多型頻度とSILの相対危険率

Study group	n	Genotype at Fas promoter -670		OR	95% CI	P value
		AA	GA + GG			
High risk HPV -						
Normal	53	15 (28.3%)	38 (71.7%)	1		
LSIL	121	36 (29.8%)	85 (70.2%)	0.93	0.44 - 1.95	0.847
HSIL	9	1 (11.1%)	8 (88.9%)	3.16	0.40 - 25.04	0.276
High risk HPV +						
Normal	10	4 (40.0%)	6 (60.0%)	1		
LSIL	46	15 (32.6%)	31 (67.4%)	1.38	0.34 - 5.66	0.655
HSIL	40	4 (10.0%)	36 (90.0%)	6.00	1.32 - 27.37	0.021

次に、婦人科癌患者の germ line DNA を用いて同様に検討した。健常者 95、頸癌 83、体癌 108、卵巣癌 68 例より末梢血リンパ球を採取し、常法により genomic DNA を抽出した。PCR-RFLP により Fas promoter -670 の遺伝子多型解析を行った結果、健常者に比較して、頸癌では GG の多型頻度および G allele 頻度が有意に高く、頸癌発症リスクを有意に増加させた (表 9、10)。

表9 婦人科癌末梢血リンパ球DNAにおけるFas promoter -670遺伝子多型

Samples	Genotype frequency			Allele frequency	
	AA	GA	GG	A	G
Normal (n=95)	23 (24.2%)	54 (56.8%)	18 (18.9%) [*]	100 (52.6%)	90 (47.4%) [‡]
Cervical cancer (n=83)	15 (18.1%)	38 (45.8%)	30 (36.1%) [‡]	68 (41.0%)	98 (59.0%) [‡]
Endometrial cancer (n=108)	39 (36.1%)	50 (46.3%)	19 (17.6%)	128 (59.3%)	38 (40.7%)
Ovarian cancer (n=68)	18 (26.4%)	37 (54.4%)	13 (19.1%)	73 (53.7%)	63 (46.3%)

^{*} P = 0.0353 χ^2 vs normal[‡] P = 0.0278 χ^2 vs normal

表10 Fas promoter -670遺伝子型と子宮頸癌発生リスク

Fas promoter -670 polymorphism	Control subjects	Cancer patients	OR (95% CI)
Genotype			
AA	23 (24.2%)	15 (18.1%)	1.00 (referent)
GA	54 (56.8%)	38 (45.8%)	1.08 (0.49 to 2.37)
GG	18 (18.9%)	30 (36.1%)	2.56 (1.08 to 6.10)
Allele			
A	100 (52.6%)	68 (41.0%)	1.00 (referent)
G	90 (47.4%)	98 (59.0%)	1.60 (1.05 to 2.43)

以上から、Fas promoter -670 の G allele は、頸癌発生に密接に関与することが示唆された。

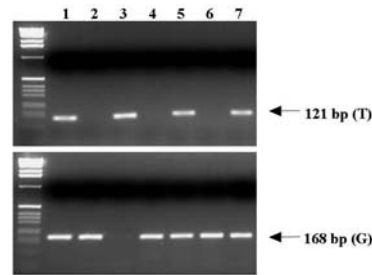
(4) MDM2 SNP309 遺伝子多型

p53 阻害因子 MDM2 の promoter 領域に SNP

が遺伝性または散発性に比較的高頻度で存在し、この SNP309 は MDM2 の転写を亢進し p53 の機能を抑制して発癌に関与する。今回、婦人科癌患者の germ line における MDM2 SNP309 を解析し癌発症リスクとの関連性を調べた。健常者 108、頸癌 88、体癌 119、卵巣癌 85 例より末梢血リンパ球を採取し、常法により genomic DNA を抽出した。MDM2 SNP309 の wild allele (T) および mutant allele (G) の各々を認識する specific primer を用いて two-independent PCR assay を行い、TT、TG、GG に genotyping した (図 6)。

MDM2 SNP309 多型頻度は、健常者に比較して、体癌では TT+TG に対する GG の頻度が有意に高かった (表 11)。さらに、MDM2 SNP309 多型頻度を体癌症例における臨床病理学的因子と対比したところ、閉経後および I 型体癌で GG の頻度が有意に高かった (表 12)。

したがって、MDM2 SNP309 GG homozygote は閉経後 I 型体癌発症のリスク因子であることが示唆された。



Lanes 1, 5, 7: TG heterozygote
 Lanes 2, 4, 6: GG homozygote
 Lane 3: TT homozygote

図6 MDM2 SNP 309遺伝子多型解析

表11 MDM2-SNP309と子宮体癌発生リスク

MDM2 SNP309 polymorphism	Control subjects	Cancer patients	OR (95% CI)	P value
Genotype				
TT + TG	86 (79.6%)	80 (67.2%)	1.00 (referent)	
GG	22 (20.4%)	39 (32.8%)	1.91 (1.05 to 3.47)	0.0353
Allele				
T	106 (49.1%)	106 (44.5%)	1.00 (referent)	
G	110 (50.9%)	132 (55.5%)	1.20 (0.83 to 1.74)	0.3333

表12 子宮体癌症例におけるMDM2-SNP309と臨床病理学的因子の関連性

Variable	Genotype frequency		P value
	TT + TG	GG	
Menstrual status			
premenopause	30 (81.1%)	7 (18.9%)	
postmenopause	50 (61.0%)	32 (39.0%)	0.0306
Cancer type			
type I	58 (62.4%)	35 (37.6%)	
type II	22 (84.6%)	4 (15.4%)	0.0326

(5) BRAF 遺伝子変異

BRAF 遺伝子変異は悪性黒色腫や甲状腺癌で高率に検出されるが、近年卵巣癌との関連性が注目されている。特に良性漿液性腺腫、境界悪性漿液性腺腫、微小乳頭型漿液性癌を経て段階的に発生する低悪性度漿液性癌発生過程に密接に関与するとされているが、未だ不明な点も多い。そこで、卵巣癌発生過程における BRAF 遺伝子変異を漿液性腫瘍を中心に種々の組織型について検討した。卵巣腫瘍患者 104 例（境界悪性漿液性腫瘍 21 例、微小乳頭型漿液性癌 3 例、高悪性度漿液性癌 42 例、境界悪性粘液性腫瘍 12 例、粘液性癌 10 例、類内膜癌 6 例、明細胞癌 10 例）の手術摘出組織と末梢血リンパ球、健常女性 101 例の末梢血リンパ球、卵巣癌培養細胞 10 株（漿液性癌 3、粘液性癌 2、類内膜癌 1、明細胞癌 4 株）より DNA を抽出し、BRAF exon 15 における遺伝子変異を PCR-SSCP、direct sequence により解析した。BRAF 遺伝子変異は PCR-SSCP における変異バンドとして検出され、その再増幅産物の direct sequence にて V599E 変異 (T1796A) が確認された (図 7)。手術摘出組織 DNA における BRAF V599E 変異頻度は境界悪性漿液性腫瘍 24% (5/21)、微小乳頭型漿液性癌 33% (1/3)、類内膜癌 17% (1/6) で他の組織型では検出されなかった。また、全ての末梢血リンパ球 DNA および卵巣癌培養細胞 DNA において BRAF 遺伝子変異は見い出されなかった (表 13)。

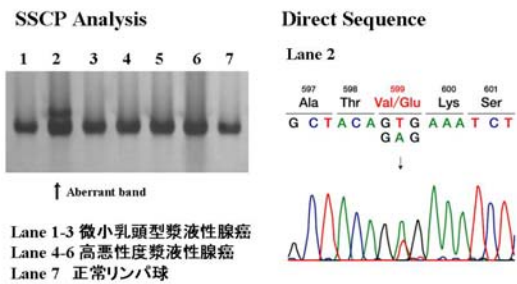


図7 BRAF exon 15における遺伝子変異解析

表13 卵巣腫瘍組織、末梢血リンパ球、卵巣癌培養細胞DNAにおけるBRAF V599E遺伝子変異

分類 (症例数)	BRAF V599E 遺伝子変異 (%)	
	腫瘍 DNA	リンパ球 DNA
境界悪性漿液性腺腫 (21)	5 (24%)	0
微小乳頭型漿液性腺癌 (3)	1 (33%)	0
高悪性度漿液性腺癌 (42)	0	0
境界悪性粘液性腺腫 (12)	0	0
粘液性腺癌 (10)	0	0
類内膜癌 (6)	1 (17%)	0
明細胞腺癌 (10)	0	0
健常女性 (101)	-	0
卵巣癌培養細胞株 (10)	0	-

以上から、BRAF V599E 変異は、境界悪性漿液性腫瘍、微小乳頭型癌を経て発生する低悪性度卵巣漿液性癌の組織発生に密接に関連し、これは早期の体細胞変異であり生殖細胞系列変異ではないことが新たに判明した。

(6) survivin splice variant の遺伝子発現
survivin は IAP family の一種で procaspase 3、7 の阻害により抗アポトーシス活性を示し、腫瘍細胞の増殖に密接に関与する。本研究では、子宮頸癌培養細胞および臨床検体における survivin (S) とその splice variant (S-2B、S-ΔEx3) の遺伝子発現を定量的に解析した。頸癌培養細胞 11 株および手術摘出頸癌組織 20 例 (扁平上皮癌 15、腺癌 5) ならびに正常頸部組織 12 例から常法により total RNA を抽出し、random primer 法にて cDNA を作成後、Real-Time PCR 法 (Roche, LightCycler) により S、S-2B、S-ΔEx3 遺伝子発現レベルを β-actin を内部標準として定量した。その結果、S、S-ΔEx3 発現レベルは正常頸部組織に比較して頸癌培養細胞および頸癌組織で有意に高値を示した (表 14)。S-2B/S および S-ΔEx3/S 比も腫瘍細胞で高値を示し、特に S-2B/S 比は進行期や骨盤リンパ節転移と有意に関連した (表 15)。S 遺伝子の発現亢進および splice variant の発現偏倚が頸癌の発生・進展に密接に関与することが推察された。

表14 子宮頸癌培養細胞、頸癌組織および正常頸部組織におけるsurvivinおよびsplice variantの遺伝子発現

Samples	Survivin	Survivin-2B	Survivin-ΔEx3
Cell lines (n=11)	0.153±0.035 ^a	0.026±0.007	0.007±0.003 ^a
Cervical carcinoma tissues (n=20)	1.706±0.526 ^b	0.770±0.392	0.084±0.031 ^a
Normal cervical tissues (n=12)	0.083±0.050 ^{a,b}	0.009±0.058	0.003±0.001 ^{a,c}

Data for survivin, survivin-2B and survivin-ΔEx3 are normalized with the data for β-actin. Each value is expressed as mean±S.E.
a, c, d: P < 0.05 b: P < 0.01

表15 子宮頸癌組織におけるsurvivin-2B/survivinおよびsurvivin-ΔEx3/survivin比と臨床進行期ならびに骨盤リンパ節転移との関連性

Samples	Survivin-2B/Survivin	Survivin-ΔEx3/Survivin
Clinical stage		
Stage 1 (n=11)	0.181±0.105 ^a	0.089±0.037
Stage 2-3 (n=9)	0.838±0.396 ^a	0.146±0.058
Pelvic lymphnode metastasis		
Negative (n=12)	0.251±0.117 ^b	0.080±0.034
Positive (n=8)	0.816±0.449 ^a	0.167±0.062

Each value is expressed as mean ± S.E.
a, b: P < 0.05

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件) <全て査読あり>
1. Ueda M, Yamamoto M, Nunobiki O, et al:

- Murine double-minute 2 homolog single nucleotide polymorphism 309 and the risk of gynecologic cancer. *Hum Cell* 22:49-54, 2009.
2. Ueda M, Toji E, Nunobiki O, et al: Germline polymorphism of cancer susceptibility genes in gynecological cancer. *Hum Cell* 21:95-104, 2008.
 3. Fujiwara K, Enomoto T, Fujita M, et al: Alterations of the K-ras and p53 genes in tamoxifen-associated endometrial carcinoma. *Oncol Rep* 19:1293-1298, 2008.
 4. Ueda M, Toji E, Nunobiki O, et al: Mutational analysis of the BRAF gene in human tumor cells. *Hum Cell* 21:13-17, 2008.
 5. Futakuchi H, Ueda M, Kanda K, et al: Transcriptional expression of survivin and its splice variants in cervical carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 17:1092-1098, 2007.
 6. Ueda M, Toji E, Noda S : Germ line and somatic mutations of BRAF V599E in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 17:794-797, 2007.
 7. Ueda M, Toji E, Noda S : Exemestane or tamoxifen ? [Correspondence letter] *Lancet* 369:1600, 2007.
 8. Fujino K, Ueda M, Takehara M, et al: Transcriptional expression of survivin and its splice variants in endometriosis. *Mol Hum Reprod* 12:383-388, 2006.
 9. Ueda M, Hung YC, Chen JT, et al: Infection of human papillomavirus and overexpression of dihydrodiol dehydrogenase in uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 102:173-181, 2006.
 10. Ueda M, Hung YC, Terai Y, et al: HER-2 codon 655 polymorphism in cervical carcinogenesis. *Int J Gynecol Cancer* 16:325-328, 2006.
 11. Ueda M, Terai Y, Kanda K, et al: Fas gene promoter -670 polymorphism in gynecological cancer. *Int J Gynecol Cancer* 16:179-182, 2006.
 12. Ueda M, Terai Y, Ueki M : Comment on "Germline polymorphism of p53 codon 72 in ovarian cancer". [Letter to the editor] *Gynecol Oncol* 101:373, 2006.
 13. Ueda M, Terai Y, Kanda K, et al: Germline polymorphism of p53 codon 72 in gynecological cancer. *Gynecol Oncol* 100:173-178, 2006.

[学会発表] (計 8 件)

1. 植田政嗣ほか：婦人科癌とアポトーシス、第49回日本臨床細胞学会総会（春期大会）、2008年6月7日、東京
2. 植田政嗣ほか：卵巣癌の発生とBRAF遺伝子変異、第60回日本産科婦人科学会総

3. 植田政嗣ほか：卵巣癌の発生とBRAF V599E 遺伝子変異、第25回日本ヒト細胞学会学術集会、2007年8月4日、東京
4. 植田政嗣ほか：卵巣癌の発生とBRAF V599E 遺伝子変異、第48回日本臨床細胞学会総会（春期大会）、2007年6月8日、千葉
5. Masatsugu Ueda et al: Transcriptional expression of survivin and its splice variants in cervical carcinomas. The 59th Annual Meeting of Japan Society of Obstetrics and Gynecology, April 16, 2007, Kyoto.
6. 植田政嗣ほか：婦人科癌の悪性度と血管新生、第45回日本臨床細胞学会（秋期大会）、2006年11月11日、東京
7. 植田政嗣ほか：子宮頸癌発生と遺伝子多型、第45回日本臨床細胞学会（秋期大会）、2006年11月10日、東京
8. Masatsugu Ueda et al: Transcriptional expression of survivin and its splice variants in cervical carcinomas. The 24th Annual Meeting of Japan Human Cell Society, July 31, 2006, Tokyo.

[図書] (計 3 件)

1. Ueda M, Toji E, Nunobiki O, Izuma S, Okamoto Y, Torii K, Noda S : Genetic polymorphism in gynecological cancer. In: *Current research in cancer*, pp. 25-46, Research Media, Kerala, 2008. (141 pages)
2. 植田政嗣：よくわかる卵巣癌のすべて 4 分子生物学的特徴 6) 血管新生関連因子 (安田 允編) pp. 179-185, 永井書店, 東京, 2007. (514 頁)
3. 植田政嗣：先端医療シリーズ 39 産科婦人科の最新医療-血管新生抑制を介した卵巣癌分子標的治療- (武谷雄二、丸尾猛、吉村泰典編) pp. 179-183, 先端医療技術研究所, 東京, 2006. (418 頁)

[その他]

植田政嗣：平成 19 年度日本臨床細胞学会賞受賞、平成 20 年 6 月 8 日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植田 政嗣 (Ueda Masatsugu)
大阪医科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号：50223467

(2) 研究分担者

寺井 義人 (Terai Yoshito)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：90278531

竹原 幹雄 (Takehara Mikio)
大阪医科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号：40298766

金村 昌徳 (Kanemura Masanori)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：40298782