

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2001.06) 19巻2号:168~169.

鼻性NK/T細胞リンパ腫における β -カテニン遺伝子の解析

高原幹, 坂東伸幸, 岸部幹, 今村正信, 小林吉史, 林達哉,
野中聡, 原渕保明

51. 鼻性NK/T細胞リンパ腫における β -カテニン遺伝子の解析

○高原 幹, 坂東伸幸, 岸部 幹, 今村正信, 小林吉史, 林 達哉, 野中 聡, 原淵保明

旭川医科大学耳鼻咽喉科学教室

Mutations of beta-catenin gene in nasal NK/T-cell lymphoma

Takahara M, Bandoh N, Kishibe K, Imada M, Kobayashi Y, Hayashi T, Nonaka S, Harabuchi Y

Dept. of Otolaryngology, Asahikawa Medical College

1. 目的

これまで我々は従来進行性鼻壊疽や致死性正中肉芽腫と呼ばれていた疾患の本態がNK/T細胞リンパ腫でその発症がEBウイルスが深く関連していることを報告してきた。しかし、浸潤破壊性病変や多臓器浸潤のメカニズムについては未だ不明な点が多く、予後も極めて不良である。よって、癌関連遺伝子の検討は基本的な腫瘍特性を理解する上で、大変重要であると思われる。

最近、種々の悪性腫瘍において、 β -カテニン遺伝子の変異が報告されている。本来、 β -カテニンはE-カドヘリンとともに細胞膜の裏打ちを担う蛋白であるが、エクソン3などの変異により分解が妨げられ、細胞内に蓄積し転写因子として機能する。従って、 β -カテニン遺伝子はエクソン3を初めとした遺伝子変異により細胞を癌化の方向へ導く癌原遺伝子であるとされている。

現在、甲状腺未分化癌の51%¹⁾、肝癌の24%²⁾に β -カテニン遺伝子変異を認めたとの報告がある。しかしながら、悪性リンパ腫における β -カテニン蛋白の発現とその遺伝子変異について解析した報告はない。今回我々は、鼻性NK/T細胞リンパ腫における β -カテニン蛋白の発現とその遺伝子変異について解析したので報告する。

2. 対象・方法

対象は鼻性NK/T細胞リンパ腫と診断された31例で、男性18例、女性13例、年齢は20~78歳(中央値49歳)である。

β -カテニンの免疫染色は10分1回マイクロウェーブ処理を行った後、1次抗体として100倍希釈抗ヒト β -カテニンマウスモノクローナル抗体(Trans-

duction labo)を使用した。2次抗体としてはペルオキシターゼ標識ポリマー試薬(ENVISION+: DAKO)を使用した。判定は腫瘍細胞の核、細胞質が広範囲に濃染されたものを陽性、それ以外を陰性とした。

β -カテニンの遺伝子変異はパラフィン切片をDAKO社製PNA ISH detection kitを用いてEBERのin situ hybridizationを施行し腫瘍細胞を染色した。凍結切片においてはCD56による免疫染色を行い腫瘍細胞を染色した。次にlaser capture micro dissection system(LM 100; Arc-turus Engineering, Santa Clara, CA)を使用して染色された腫瘍細胞を採取し、DNAを抽出した。続いて β -カテニンのエクソン3におけるプライマーを設計し、抽出されたDNAをテンプレートとしてPCRを施行した。得られた増幅産物を鋳型にして、塩基配列をオートシーケンサー(ABI PRISM 310)にて決定し、遺伝子変異を同定した。

3. 結果

免疫染色と遺伝子変異の結果を表1に示す。 β -カテニンの免疫染色では31例中4例が陽性であり、遺伝子変異は5例に認められた。変異が同定された5例中3例はサイレント変異であった。他の2例はアミノ酸の変化を伴うミスセンス変異であり、複数以上の変異を認めた。また両者とも免疫染色にて β -カテニンの核、細胞質内蓄積を認めた。

臨床像との相関を表2、表3に示す。免疫染色では有意な所見は認められなかった。遺伝子変異に関しては、ミスセンス変異2例を対象として検討した。その結果、臨床病期との相関が認められ、変異がある症例は有意に病期が進行していた。そ

表 1

- ・ 過剰発現 : 4/31例 (13%)
- ・ 遺伝子変異 : 5/31例 (16%)

症例	コドン	正常塩基配列	点変異	過剰発現	変異の種類
9	32	GAC (Asp)	GAU (Asp)	-	サイレント変異
14	24	CAC (His)	CGC (Arg)	+	多発変異
	56	GAT (Asp)	GAC (Asp)		
	60	TCC (Ser)	CCT (Pro)		
18	60	TCC (Ser)	CCC (Pro)	+	多発変異
	67	GAC (Asp)	GAA (Glu)		
24	47	AGT (Ser)	AGC (Ser)	-	サイレント変異
25	31	CTG (Leu)	TTG (Leu)	-	サイレント変異

表 2 種々の背景因子とβ-カテニン過剰発現の相関

背景因子	過剰発現		p-value
	(+) (n=4)	(-) (n=27)	
女性:男性	3:1	10:17	ns
年齢 中央値 (範囲) 年	33 (28-55)	52 (20-78)	0.08
Stage (I:II:III:IV)	2:1:0:1	19:6:1:1	ns
B-症状	2 (50%)	15 (56%)	ns
浸潤破壊性病変			
None: Limited: Large	1:1:2	4:10:13	ns
LDH 中央値 (範囲) IU/L	440 (209-1837)	368 (233-809)	ns
Polymorphic histology	2 (50%)	18 (67%)	ns
EBER1+	3 (75%)	26 (96%)	ns
LMP1+	2 (50%)	18 (67%)	ns
5年生存率	50%	23%	ns

表 3 種々の背景因子とβ-カテニン遺伝子変異の相関

背景因子	遺伝子変異		p-value
	(+) (n=2)	(-) (n=29)	
女性:男性	2:0	11:18	ns
年齢 中央値 (範囲)	38 (30-55)	49 (20-78)	ns
Stage (I:II:III:IV)	0:1:0:1	21:6:1:1	0.05
B-症状	1 (50%)	16 (55%)	ns
浸潤破壊性病変			
None: Limited: Large	0:1:1	5:10:14	ns
LDH 中央値 (範囲) IU/L	1023 (209-1837)	368 (233-809)	ns
Polymorphic histology	2 (100%)	18 (62%)	ns
EBER1+	2 (100%)	27 (93%)	ns
LMP1+	1 (50%)	9 (31%)	ns
5年生存率	50%	24%	ns

の他の因子においては有意な相関を認めなかった。

4. 考察

β-カテニンの遺伝子変異は鼻性NK/T細胞リンパ腫の発症に関与する変異ではなく、その増大に関与する変異である可能性が示唆された。

しかし、31例中ミスセンス変異は2例のみに認められたに過ぎず、鼻性NK/T細胞リンパ腫とβ-カテニン遺伝子変異の関連は少ないと考えられた。

(参考文献)

- 1) Gineza, GR., Giovanni, T., et al.: Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. Cancer Res. 59: 1181-1815, 1999.
- 2) Kondo, Y., Kanai, Y., et al.: Beta-catenin accumulation and mutation of exon3 of the beta-catenin gene in hepatocellular carcinoma. Jpn. J. Cancer Res. 90: 1301-1309, 1999.