

肝細胞癌と p 53 遺伝子, hMSH 2 遺伝子変異

土肥雪彦・矢野将嗣・浅原利正*



REVIEW ARTICLE

W'Waves

分子生物学の進歩により肝細胞癌のさまざまな遺伝子異常が明らかになってきている。もっともよく調べられている遺伝子は、癌抑制遺伝子である p 53 遺伝子であり、p 53 遺伝子の変異と肝細胞癌の腫瘍径および分化度、さらには予後との間に密接な関係があることが示されている^{1,2)}。しかしながら、p 53 遺伝子に変異を認めない症例においても、しばしば予後不良症例を経験する。肝細胞癌においては、ウイルス感染による肝細胞の壊死・再生を伴う慢性炎症の過程で、複製エラーを生じると考えられ³⁾、ミスマッチ修復系の異常が腫瘍の進展に関与している可能性がある。しかし、肝細胞癌における DNA ミスマッチ修復遺伝子異常は未だ不明である。

本稿では、肝細胞癌における p 53 遺伝子変異とミスマッチ修復に主要な役割を果たす hMSH 2 遺伝子の変異を、筆者らの成績を交えながら解説する。

p 53 遺伝子と hMSH 2 遺伝子

DNA ミスマッチ修復遺伝子の欠失が、遺伝性非腺腫性大腸癌 (HNPCC) を生じること、そして、DNA ミスマッチ修復機能の欠損が遺伝子不安定性を増加させ、癌化に重要な役割を果たすことが明らかになってきた⁴⁾。なかでも、hMSH 2 遺伝子はミスマッチ修復において、主要な役割を果たしており、HNPCC における変異の頻度は 31%

と報告されている⁴⁾。また、p 53 遺伝子は細胞周期調節・アポトーシス誘導などに関与しており、さまざまな癌においても遺伝子変異が高頻度に存在することが知られている。

近年、hMSH 2 遺伝子のプロモーター領域に p 53 遺伝子の結合配列を認め、p 53 遺伝子は hMSH 2 遺伝子の同部に結合することによって、hMSH 2 遺伝子発現の調節を行っていることが判明した⁵⁾。つまり、p 53 遺伝子は DNA ミスマッチ修復にも、深くかかわっていることが明らかになった。また、Cranston らは、ノックアウトマウスを用いて、p 53 遺伝子および hMSH 2 遺伝子の欠損が癌化をきたし、生存期間を短縮することを示した⁶⁾。

肝細胞癌と p 53 遺伝子, hMSH 2 遺伝子変異

筆者らは、肝細胞癌切除症例について、DNA ミスマッチ修復遺伝子である hMSH 2 遺伝子と、hMSH 2 遺伝子発現の調節を行う p 53 遺伝子の遺伝子変異を検索した。

(1) 対象症例

1993 年 7 月より 1996 年 10 月までに、肝切除術を施行され、2 年以上経過した肝細胞癌治療切除例 38 例 (42 腫瘍) を対象とした。これらの症例の平均年齢は 62.8 歳で、男性は 32 例、女性は 6 例であった。HBs 抗原陽性は 9 例、HCV 抗体陽性は 28 例、両マーカーともに陽性は 1 例であった。腫瘍径は 0.8 cm から 8.5 cm、平均 4.0 cm であった。慢性肝炎は 11 例、肝硬変は 27 例で、全例に

* 広島大学医学部第二外科学教室

表 1 p 53, hMSH 2 遺伝子変異と腫瘍径, 腫瘍の分化度

	p 53 or hMSH 2 mutation positive (n=13)	p 53 and hMSH 2 mutation negative (n=29)
腫瘍径 (cm)		
≤2.0	0	4
2.0<	13	25
組織学的分化度		
高分化癌	1	5
中分化～低分化癌	12	24

表 2 p 53, hMSH 2 遺伝子変異と病理学的因子の比較

病理学的因子	p 53 or hMSH 2 mutation positive (n=13)	p 53 and hMSH 2 mutation negative (n=29)	p 値
vp (+)	6/13 (46.2%)	7/29 (24.1%)	n. s.
im (+)	9/13 (69.2%)	10/29 (34.5%)	p=0.0388
vp (+) or/and im (+)	11/13 (84.6%)	13/29 (44.8%)	p=0.0173

vp (+), 門脈侵襲陽性; im (+), 肝内転移陽性; n. s., 有意差なし

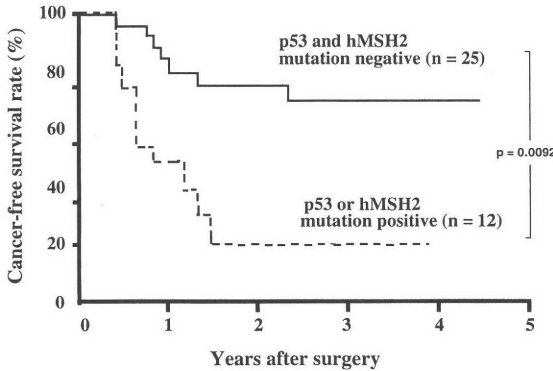


図 1 p 53, hMSH 2 遺伝子変異と無再発生存曲線 (術死症例 1 例は除く)

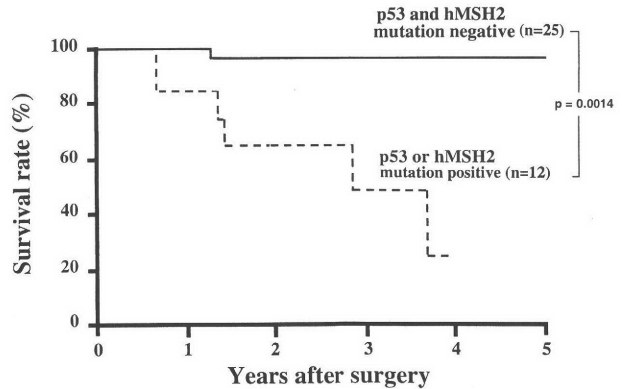


図 2 p 53, hMSH 2 遺伝子変異と生存曲線 (術死症例 1 例は除く)

びまん性肝疾患を合併していた。

(2) 方法

外科的切除にて採取した標本を病理組織学的検査を行ったのち, DNA を抽出し p 53 遺伝子および hMSH 2 遺伝子の変異は PCR-SSCP 法, ダイレクト・シーケンス法にて調べた。また, DNA ミスマッチ修復機能は, 5 種類のマイクロサテライト領域の不安定性を PCR 法で増幅後, 電気泳動により評価した。

(3) 結果と考察

① p 53 および hMSH 2 遺伝子変異と臨床病理学的所見との相関

p 53 遺伝子の変異は 6 例(16%), hMSH 2 遺伝子の変異は 7 例 (18%) に認めた。p 53 遺伝子と hMSH 2 遺伝子の変異をとともにもつ症例は認めなかった。

表 1 は, 遺伝子変異と腫瘍の分化度および腫瘍径の関係を比較したものである。腫瘍径が 2cm 以下の腫瘍には, どちらの遺伝子変異も認めなく, 高分化肝癌で変異を認めたのは, p 53 遺伝子変異のある 1 腫瘍のみであった。

また表 2 に示すように, p 53 遺伝子もしくは hMSH 2 遺伝子に変異のある腫瘍では, 13 腫瘍中

9腫瘍 (69.2%)に肝内転移, 13腫瘍中11腫瘍 (84.6%)に門脈侵襲もしくは肝内転移を認め, 変異のない腫瘍に比べ有意に高率であった。その他の臨床病理学的因子について, 有意差は認めなかった。

さらに, マイクロサテライト領域の不安定性は, どちらかの遺伝子に変異のある症例では62%に, 変異のない症例では20%に認め, 両群間に有意差を認めた。

以上の結果より, p53遺伝子およびhMSH2遺伝子の変異は, 遺伝子不安定性を引き起こすことにより, 肝細胞癌の進展に関与する遺伝子異常であることが示された。

② p53およびhMSH2遺伝子変異と予後との相関

図1, 2に示すように, 両遺伝子に変異のない症例は, どちらかの遺伝子に変異のある症例に比べて, 有意に良好な無再発生存率・生存率を示した。変異のない症例のうち, 観察期間中に癌死した症例は1例のみであった。この2群間の予後の差は以下の2点より説明される。第一は, p53遺伝子もしくはhMSH2遺伝子に変異をきたすと, DNAミスマッチ修復機構が機能しない, DNAミスマッチ修復機能が欠損すると, 突然変異の頻度が100から600倍以上になるとされている⁷⁾。そのため, 肝細胞癌の進展が加速されたと考える。第二は, p53遺伝子もしくはhMSH2遺伝子に変異をきたすと, 癌化学療法に対して耐性を獲得する^{8,9)}。これは, ミスマッチ修復機構を失った細胞は, 遺伝子不安定性などによって, 薬剤耐性型を容易に獲得するからである。化学療法に対する感受性の違いは, 再発後の予後の差を決定する重要な因子である。

p53, hMSH2遺伝子変異と肝細胞癌に対する戦略

以上の解析結果より, 次に述べるような肝細胞癌に対する戦略を提示できる。2cm以下の腫瘍では, 両遺伝子の変異が認められなかったことより, 2cm以下の最小肝癌で腫瘍を発見して治療を行う, いわゆる「早期発見・早期治療」が, やはり

肝要である。2cm以下の腫瘍に対しては, 肝部分切除術もしくはマイクロ波凝固療法¹⁰⁾でよいと考える。両遺伝子に変異を認めない2cmをこえる腫瘍に対しては, 肝切除術が有効であり, 再発に対しても肝切除術, 経皮的マイクロ波凝固療法, 肝動注を含む化学療法¹¹⁾などにより, 長期生存が期待できると思われる。2cmをこえる腫瘍で, どちらかの遺伝子に変異がある症例に対しては, 現行の治療では予後の改善に限界があり, 外科治療に遺伝子補充療法, 遺伝子免疫療法を絡めた治療などの工夫が必要と考える。

結 語

DNAミスマッチ修復に関与するp53遺伝子もしくはhMSH2遺伝子の変異は, 遺伝子不安定性を引き起こすことにより肝細胞癌の進展に関与する遺伝子異常であり, きわめてよく予後を反映している。

今後は, この解析結果に基づいて, 肝細胞癌患者の予後予測, および遺伝子治療の可能性を検討したい。

文 献

- 1) Oda T, Tsuda H, Scarpa A, et al. p53 gene mutation spectrum in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 52: 6358-6364, 1992.
- 2) Hayashi H, Sugio K, Matsumata T, et al. The clinical significance of p53 gene mutation in hepatocellular carcinomas from Japan. *Hepatology*, 22: 1702-1707, 1995.
- 3) Salvucci M, Lemoine A, Azoulay D, et al. Frequent microsatellite instability in post hepatitis B viral cirrhosis. *Oncogene*, 13: 2681-2685, 1996.
- 4) Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med*, 2: 169-174, 1996.
- 5) Scherer SJ, Welter C, Zang KD, et al. Specific in vitro binding of p53 to the promoter region of the human mismatch repair gene hMSH2. *Biochem Biophys Res Commun*, 221: 722-728, 1996.
- 6) Cranston A, Bocker T, Retimair A, et al. Female embryonic lethality in mice nullizygous for both Msh2 and p53. *Nat Genet*, 17: 114-118, 1997.
- 7) Bhattaryya NP, Skandalis A, Ganesh A, et al. Mutator phenotypes in human colorectal carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91: 6319-6323, 1994.
- 8) Lowe SW, Bodis S, McCatchey A, et al. p53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo. *Science*,

- 266 : 807-810, 1994.
- 9) Fink D, Zheng H, Nebel S, et al. In vitro and in vivo resistance to cisplatin in cells that have lost DNA mismatch repair. *Cancer Res*, 57 : 1841-1845, 1997.
- 10) Asahara T, Nakahara H, Fukuda T, et al. Percutaneous microwave coagulation therapy for hepatocellular carcinoma. *Hiroshima J Med Sci*, 47 : 151-155, 1998.
- 11) 坂本敏行, 浅原利正, 岡本有三, 他. 肝細胞癌術後早期動注化学療法の検討. *癌と化学療法*, 19 : 1493-1496, 1992.