

# 日本がん分子疫学研究会 ニュースレター

2008年3月  
Vol.8, No.2

事務局：〒466-8550  
名古屋市昭和区鶴舞町65  
名古屋大学大学院医学系研  
究科予防医学/医学推計・判  
断学内  
TEL：052-744-2132

## 日本がん分子疫学研究会・日本がん予防学会・日本がん疫学研究会合同大会 「がん予防大会 2008 福岡」の開催案内

九州大学生体防御医学研究所 中別府 雄作

2008年5月22日(木)・23日(金)の2日にわたり、九州大学医学部百年講堂(福岡市東区馬出3-1-1)で、第15回日本がん予防学会(会長:古野純典)第31回日本がん疫学研究会(会長:古野純典)第9回日本がん分子疫学研究会(会長:中別府雄作)による合同大会が開催されます。例年7月上旬に開催されていましたが、7月の福岡は梅雨末期の大雨に見舞われることが多くなっていますので、天候に恵まれる5月下旬に開催するこ

とに致しました。

今回も、昨年の「がん予防大会 in Tokyo 2007」に習って集学的がん予防を目指した「がん予防大会 2008 福岡」としました。現在、口演発表及びポスター発表の演題を募集しております。会員の皆様からの演題をお待ちしております。

米国がん研究財団(AICR)と世界がん研究基金(WCRF)は1997年に「食物、栄養とがん予防:世界的展望」と題する報告書を出版しました。これによって、多様な研究成果を総合的に評価し、がん一次予防を図ることの重要性が広く認識されるようになりました。昨年11月にはこの報告書の改訂版「食物、栄養、運動とがん予防:世界的展望」が出版されました。実験研究の成果と疫学的知見を総合的に評価して、がん予防指針が新たに提案されています。今回のがん予防大会が、分子、個人、集団を対象にした多様ながん研究の成果を総合的に捉え、我が国におけるがん研究の方向性とがん予防の実践を改めて考える機会になることを願っております。このような観点から、合同シンポジウムとし

て「酸化ストレスと発がん」及び「食物・栄養とがん予防」の2つを企画しました。酸化ストレスと食物・栄養は密に関連する発がんの重要な要因です。「酸化ストレスと発がん」では、核酸の酸化損傷としてもっとも普遍的な酸化塩基である8-OHグアニンとその修復・防御機構に注目して研究を進めている5名の先生方に最先端の研究成果を発表していただきます。「食物・栄養とがん予防」では、発がんの分子メカニズム、実験病理及び疫学の観点から5名の先生方に総括的講演をお願いしております。

本大会では、韓国がん研究財団理事長Ahn Yoon-Ok先生(ソウル大学教授)の招待講演、AICR/WCRF 2007報告書の作成に参加されました廣畑富雄先生(九州大学名誉教授)の教育講演、ならびに大腸発がんにおける突然変異とその発生機序について先進的研究を進めている織田信弥先生の若手研究者講演も企画しました。学ぶことの多い学会になると確信しております。多くの皆様のご参加を切にお願い申し上げます。

### CONTENTS

「がん予防大会 2008 福岡」の開催案内 中別府雄作	・・・1
保存ホルマリン固定・パラフィン包埋組織試料を用いた分子生物学的解析 濱谷清裕	・・・4
がん哲学外来 樋野興夫	・・・6
事務局連絡先の変更	・・・6
編集後記	・・・6

会期 2008年5月22日(木)～23(金) (懇親会2008年5月22日)

会場 九州大学 医学部百年講堂 (福岡市東区馬出3-1-1)

演題受付 2008年2月15日～3月31日

事前登録 2008年4月30日締切

#### プログラム概要

- 招待講演 演者: Yoon-Ok Ahn (国立ソウル大学校医科大学・教授)  
司会: 青木 國雄 (名古屋大学名誉教授)
- 教育講演 演者: 廣畑 富雄 (九州大学名誉教授)  
司会: 小林 博 (財団法人札幌がんセミナー・理事長)
- 若手研究者講演 演者: 織田 信弥 (九州がんセンター・臨床研究部・腫瘍遺伝学研究室・室長)  
司会: 中別府 雄作 (九州大学 生体防御医学研究所・教授)

#### 合同シンポジウム1 「酸化ストレスと発がん」

- 司会 葛西 宏 (産業医科大学・産業生態科学研究所・教授)  
菊地 正悟 (愛知医科大学・医学部・教授)
- 演者 葛西 宏 (産業医科大学・産業生態科学研究所・教授)  
豊国 伸哉 (京都大学・病態生物医学・准教授)  
中津 可道 (九州大学大学院・医学研究院・准教授)  
横田 淳 (国立がんセンター研究所・生物学部・部長)  
藤沢 律子 (九州大学大学院・病態機能内科学・医員)

#### 合同シンポジウム2 「食物・栄養とがん予防」

- 司会 白井 智之 (名古屋市立大学大学院医学研究科・教授)  
田島 和雄 (愛知がんセンター研究所・所長)
- 演者 酒井 敏行 (京都府立医科大学大学院医学研究科・教授)  
田中 卓二 (金沢医科大学・教授)  
高橋 智 (名古屋市立大学大学院医学研究科・講師)  
田島 和雄 (愛知がんセンター研究所・所長)  
津金昌一郎 (国立がんセンター・がん予防検診センター・予防研究部長)

#### 口演発表・ポスター発表

##### 参加費

- 事前登録 一般7,000円、学生3,000円  
当日登録 一般8,000円、学生4,000円  
懇親会費 一律5,000円

#### 演題申し込み

下記事務局宛、e-メール添付文書で演題抄録をお送りください。抄録は、A4サイズ・上下左右余白3cmで、演題名、演者氏名・所属、抄録本文(形式自由)を記載し、各項目ごとに1行空けて下さい。演者氏名・所属は、発表者を筆頭に施設ごとにまとめ、氏名の後に所属(略称)を入れて下さい。

例) 銀光、古野純典(九州大・予防医学) 中別府雄作(九州大・生医研)

#### 「がん予防大会2008福岡」事務局

〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1

九州大学大学院医学研究院予防医学分野

TEL (092) 642-6110 FAX (092) 642-6115 e-mail: gann2008@phealth.med.kyushu-u.ac.jp



# がん予防大会2008福岡

会場へのアクセス: (<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/100ko-do/>)を参照下さい。

## 空路

福岡空港→(地下鉄1号線)→「中洲川端駅」、貝塚方面へ乗換→(地下鉄2号線)→「馬出九大病院前駅」

JR ([JR九州時刻・運賃・経路検索](#))

「JR博多駅」→(地下鉄1号線)→「中洲川端駅」、貝塚方面へ乗換→(地下鉄2号線)→「馬出九大病院前駅」

西鉄 ([西鉄バス総合時刻・運賃案内](#))

西鉄福岡駅 →(地下鉄)→ 馬出九大病院前駅

## 高速バス

天神バスセンター下車→(地下鉄)→「馬出九大病院前駅」



★ 会場: 九州大学医学部百年講堂

〒812-8582

福岡市東区馬出3丁目1番1号

Tel: 092-642-6257

# 保存ホルマリン固定・パラフィン包埋組織試料を用いた分子生物学的解析

(財)放射線影響研究所 放射線生物学 / 分子疫学部 濱谷清裕

PCR法がデビューするまでホルマリン固定・パラフィン包埋組織試料 (FFPE 組織試料) は、あくまで組織病理学的検討に使用されるものであり、DNA・RNA 解析の対象ではなかった。ところが、PCR法が医学・生物学の分野に導入されることにより FFPE 組織試料は分子生物学的解析の重要な試料になったが、新鮮組織試料に比べいくつかの技術的困難さも包含している。一つはパラフィン切片からの抽出効率の悪さである。二番目は、DNA・RNAが断片化しており、かつその程度が試料によって異なることである。三番目は、塩基がホルマリンによって化学的修飾を受けており、その程度もサンプル間で異なることである。しかしながら、このような困難さを持つ FFPE 組織試料もいくつかの点を工夫することにより、ほとんど全ての試料を PCR/RT-PCR 増幅により解析することが可能である。我々の経験をもとにこれらの問題点について順に触れていく (解析の全体の流れはフローチャートを参照、図1)。もちろん、新鮮組織の DNA・RNA を用いた解析において守るべき事柄については、当然守らなければならない。

DNA・RNA は必ず proteinase K を用いて抽出することである。濃度は比較的高めに設定し (1mg/ml)、50-56 で 12-18 時間保温することが重要である。我々は、DNA は QIAGEN の “QIAamp DNA Micro Kit” を使用し、RNA 抽出は Roche の “High Pure RNA Paraffin Kit” で行なっている。キットの使用に当たって

は、抽出容量などを多少変えている以外、マニュアルに沿って行ない満足いく結果を得ている。

FFPE 組織試料の解析において最も重要なことは、アンプリコンサイズである。図2に示すように DNA・RNA は断片化しているので、ほとんど全ての試料を解析しようとするならば、DNA は 80-90bp 以下に、RNA は 60bp 程度に抑えることが最も重要である。また、cDNA 合成は 9mer のランダムプライマーを用いて作成することを薦める。これらのことを履行すれば、鑄型として 10ng の DNA、あるいは 10ng の total RNA に相当する cDNA で十分な PCR/RT-PCR 増幅を行なうことが可能である。

上の二点に留意して解析を行なっても増幅効率の悪い試料もある。原因の一つは塩基の化学的修飾により鑄型活性が阻害されるためである。RNA ならば、クエン酸 (pH4.0) 溶液にて 70 で加熱することにより鑄型活性はある程度改善される (参考文献参照)。DNA ならば、ホウ酸溶液にて 100 で加熱することによりある程度改善される。もう一つは DNA・RNA が激しく断片化されているときであり (例えば 50 ~ 60bp 以下)、この場合はあきらめる以外現在のところ手はない。

図3に保存 (20年間程度) 非緩衝 FFPE 甲状腺がん組織より抽出した RNA を用いた RT-PCR 産物

の電気泳動を示した。上段 lane4・5 に示されるように、クエン酸処理により鑄型活性がある程度回復するのが見られる。また、図4に肺がん組織試料より抽出した DNA の PCR 産物の電気泳動を示した。ホウ酸処理により増幅効率が増加したのが分かる。

## 参考文献

Hamatani K, Eguchi H, Takahashi K, et al. Improved RT-PCR amplification for molecular analyses with long-term preserved formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens. J Histochem Cytochem 2006; 54: 773-780.

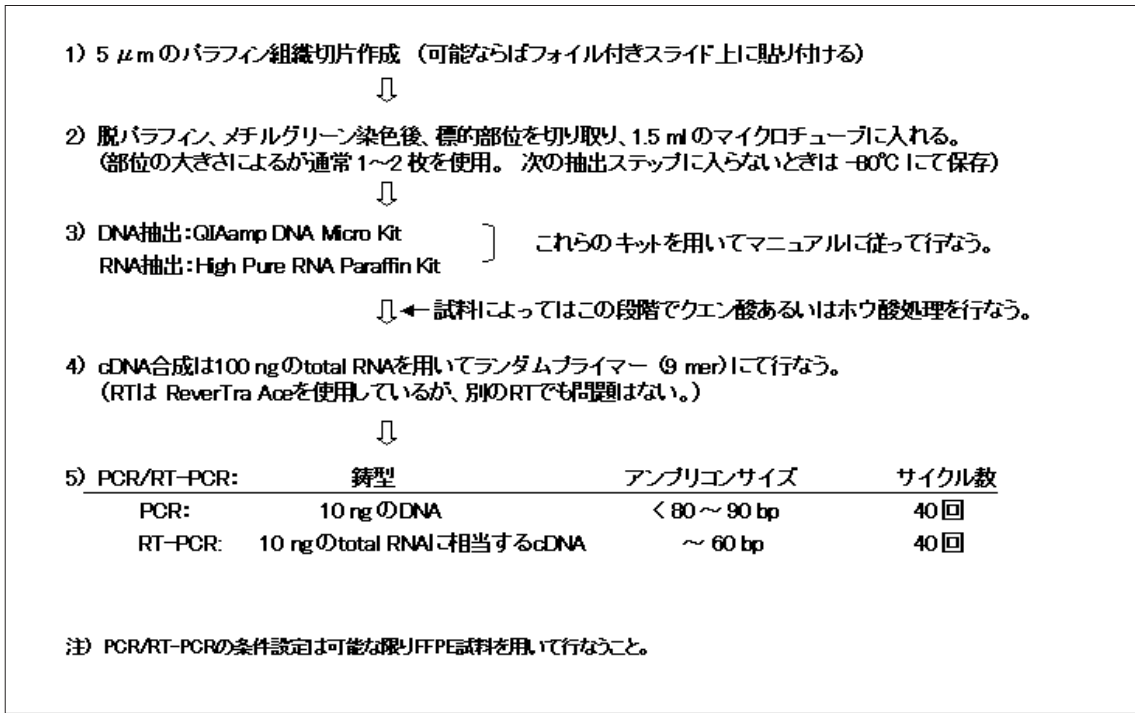


図1 FFPE組織試料を用いたPCR/RT-PCR 法による解析

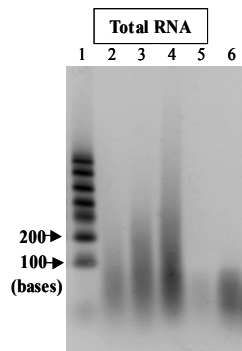


図2 FFPE組織試料から抽出したRNA

保存FFPE甲状腺がん組織から抽出したRNAの3%アガロースゲル電気泳動。Lane 2-4は異なる保存組織からのRNAである。Lane 1は100 bp ladder マーカー。Lane 5・6は70ヌクレオチドの合成DNA。

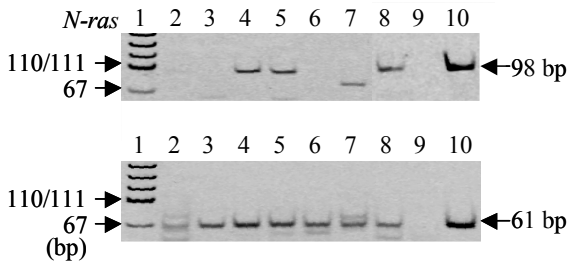


図3 FFPE甲状腺がん組織試料でのN-ras 遺伝子発現の検出

保存FFPE甲状腺がん組織試料から抽出したRNAをクエン酸バッファー中にて30分間70 で保温した(Lane 3: pH 3.0, Lane 4: pH 4.0, Lane 5: pH 5.0, Lane 6: pH 6.0, Lane 7: pH 6.5)。Lane 2は熱処理なし、Lane 8はTE (pH 7.0) で熱処理、Lane 9は陰性対照、Lane 10は陽性対照。

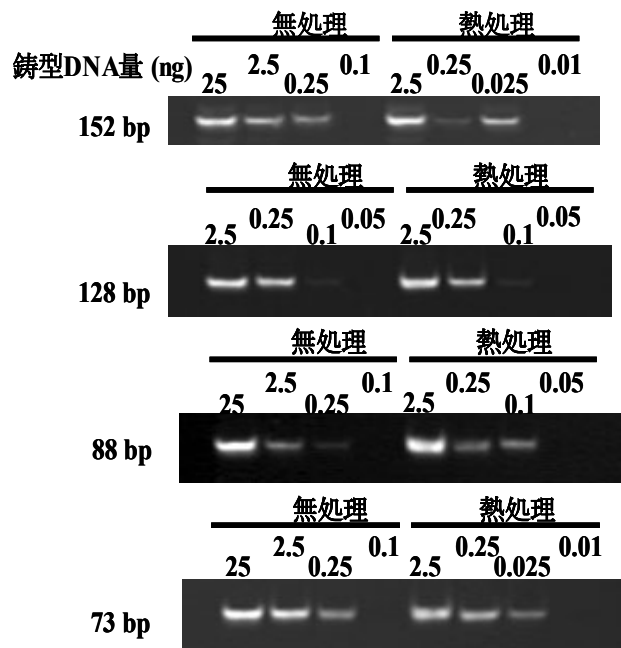


図4 保存FFPE肺がん組織試料のDNAを用いたp53の増幅

保存FFPE肺がん組織試料から抽出したDNAをホウ酸溶液(pH 10)にて30分間100 で加熱後、種々のDNA量を鋳型にPCRを行なった。



# 『がん哲学外来』 - 日本国のがん医療の隙間 -

順天堂大学医学部 病理・腫瘍学 樋野興夫

順天堂医院で1月30日から5回の試作で始めた『がん哲学外来』は、すぐに予約で埋まってしまった。多数のキャンセル待ちの状況である。遠く県外からもある。大きな驚きである。既存の「がん相談」や「セカンドオピニオン相談」とは異なる“ニッチ(すき間)”なのであろうか。

『がん哲学外来』は相談が基本である。多くは、再発・転移している患者である。家族同伴も多い。一組の相談に30～60分を費やす。セカンドオピニオン外来を紹介したりもする。それだけでも、患者さんの表情は明るくなる。いかに医師の対応に不満を持っているかである。主治医が自分と真剣に向き合ってくれていないという憤りのような感情さえある。

病状の進行を非常に知的に、かつ冷静に受け止め、残された

時間をどう使うか、家族に何を残すかということまで決めて来る患者もいる。しかし、そう人間は単純じゃない。自分の考えを誰かに伝えたい思いがある。その思いを受け止めてくれる医師はいないものかと見回した時、変わった看板を掲げている『がん哲学外来』は、心惹かれる存在として映るのであろうか。

病理学は顕微鏡を覗きながら、大局観を持つことが求められる分野でもある(『がん哲学』)。「がん細胞で起こることは、人間社会でも必ず起こる」(病理学者・吉田富三)。この4月から、病理診断科の標榜が医療施設に認められることが決まっている。外来に出る病理専門医が増えると予想される。

『がん哲学外来』は、生きることの根源的な意味を考えようとする患者と、がん細胞の発生と

成長に哲学的な意味を見出そうとする「陣営の外」に出る病理学者の出会いの場でもある。

「人生いばらの道にもかかわらず宴会」

「曖昧なことは曖昧に答えるのが科学的」

「勇ましき高尚なる生涯」

面談時間は30分から1時間。このわずかな時間でさえ、満足し、快活な笑顔を取り戻した患者も少なくない。その姿に接し、『がん哲学外来』の時代的要請を痛感する。『がん哲学外来』が全国のがん拠点病院などに広がり、がん対策基本法や基本計画が掲げる「患者主体の医療」の「事前の舵取り」になれば幸いである。

死を目前にした患者を目の前にすると、自分はなんて未熟者なんだらうと思う。がん患者を尊敬できない医師に良い医療の提供なんて出来ないであらう。

## 日本がん分子疫学研究会事務局連絡先の変更

4月1日より事務局が以下のようにかわります。

入会や会費などのお問い合わせはどうぞこちらに御連絡下さい。

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

名古屋大学大学院医学系研究科予防医学 / 医学推計・判断学内

日本がん分子疫学研究会事務局 電話 052-744-2132 F A X 052-744-2971

e-mail: jscme@med.nagoya-u.ac.jp 担当: 渡辺優子

## 編集後記

エコアクション21という取組みがある。中小事業者における環境への取組みを促進するために環境省が平成8年に策定したものだ。先日、本学も認定のための審査を受けた。省資源、省エネルギー、廃棄物削減に取組むこと、リサイクルの徹底などが取組みの主体であるが、電気、水道、ガス使用量、推定CO<sub>2</sub>排出量では成果を挙げているようである。世界規模ではCO<sub>2</sub>排出量の急増、大陸の砂漠化の拡大、黄砂の問題など、果たして自分たちの取組みは実を結ぶのだろうか。と暗澹たる気持ちになってくるが、自分の周りから変えて行かなければ何も始まらないと思いついても見る。がんの予防に置き換えることは無理かもしれないが、「食物、栄養、運動とがん予防」をアクションとして広げて行くきっかけとなるよう「がん予防大会2008福岡」を盛り上げていければと思う。(末岡)