

氏 名 (本籍)	もり 森	ゆり 子
学位の種類	博 士 (医 学)	
学位記番号	医 博 第 1 5 4 1 号	
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 25 日	
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 内科学系専攻	
学位論文題目	Chromosome band 16q24 is Frequently deleted in human gastric cancer. (ヒト胃癌における第16番染色体長腕の共通欠失 領域の同定及び同領域の候補癌抑制遺伝子 <i>H-cadherin</i> ( <i>CDH13</i> ) の構造解析とその胃癌に おける異常の検討)	
	(主 査)	
論文審査委員	教授 貫 和 敏 博	教授 帯 刀 益 夫
	教授 松 野 正 紀	

## 論 文 内 容 要 旨

胃癌は日本で最も患者数の多い悪性腫瘍であるにもかかわらず、その発生・進展の分子機構にはいまだ不明の点が多い。今回、胃癌の発癌過程に関与する癌抑制遺伝子のポジショナルクローニングへ向けて、若干の検討を加えてみた。これまでに胃癌における全ゲノムのおおまかなスクリーニングにより、第16番染色体長腕(16q)の欠失が示唆され、また、肺癌、乳癌、前立腺癌など他の悪性腫瘍でも欠失が報告されていた。そこで、今回、16qに着目し、共通欠失領域の解析を端緒とする研究を行った。

まず、24例の胃癌手術検体(分化型18例、未分化型6例)を材料に、16q22-q24に存在する14個のマイクロサテライトマーカーを用いて腫瘍組織における第16番染色体長腕の欠失を詳細に解析した。多くの症例において、検索領域全体にわたる欠失を認めたと、一部の症例では部分的欠失を呈し、その結果、3箇所の共通欠失領域が同定された。それは、G1(16q22, 18cM, 欠失頻度38%)、G2(16q24.1-q24.3, 3cM, 63%)、G3(16q24.3, 9cM, 41%)であり、これらの領域は肺癌、乳癌、前立腺癌など他の悪性腫瘍の共通欠失領域とオーバーラップしており、特に最も欠失頻度の高い領域G2は非小細胞肺癌で同定された共通欠失領域とほぼ完全に一致した。したがって16q、なかでもG2領域には胃の発がんに関与する癌抑制遺伝子が存在する可能性があると考えられた。また16qの欠失と臨床病理学的特徴との関連については、組織型との相関は認められなかったが、欠失のある症例で遠隔転移、壁内浸潤、脈管侵襲が有意差はなかったが高頻度である傾向にあった。

同定された共通欠失領域に局在する癌抑制遺伝子の候補をデータベースを利用して検索した。ゲノム上の位置や蛋白の機能を考慮したところ、近年乳癌に関連する癌抑制遺伝子として同定され、16q24.2にマップされた細胞接着分子cadherinファミリーのメンバー*H-cadherin*(*CDH13*)遺伝子が領域G2における有力な候補のひとつと考えられた。G2のなかでも特に欠失の頻度が高い領域にあるlocusのマーカー*D16S534*、*D16S422*を含む領域のYAC contigを用いて*CDH13*遺伝子とG2の位置関係を確認したところ、*D16S534*、*D16S422*がともに*CDH13*遺伝子の中に局在した。そこでその構造を決定して発現レベル、遺伝子変異、さらにエピジェネティックな変化と胃癌発生との相関を調べた。

胃癌細胞株と正常胃粘膜組織について、*CDH13*遺伝子の発現レベルをRT-PCR法を用いて比較したところ、調べた胃癌細胞株はいずれもmRNA発現が欠如していた。これらの胃癌細胞株と欠失領域解析に用いた胃癌組織検体について、5'近傍領域、およびエクソン-イントロン接合部を含めたタンパクコード領域全長を対象にPCR-SSCP法で突然変異をスクリーニングした

が、変異は検出されなかった。さらに、遺伝子発現調節領域を含むと考えられる 5' 近傍の GC rich な領域についてはメチル化の状態をも検討した。末梢血白血球ではメチル化されたアリルはなかったのに対し、胃癌組織も正常胃粘膜も全て高度にメチル化されたアリルを有し、メチル化と *CDH13* mRNA 発現レベルとの相関は証明出来なかった。

本研究では、胃癌の発生・進展に関与する癌抑制遺伝子を同定するため、胃癌ではこれまで詳細に検討されてこなかった 16q について検索し、高頻度の欠失を確認した。さらにここで同定した共通欠失領域のうち、特に欠失頻度の高い 16q24.1-q24.3 の領域 G2 に存在する癌抑制遺伝子の候補 *CDH13* について、その変化と胃癌との関連を調べた。その結果、*CDH13* は胃癌発生・進展に直接関与する可能性は少ないことが示されたが、G2 は他の癌の高頻度共通欠失領域とも重複しており、未知の重要な癌抑制遺伝子が存在する可能性は高い。本研究で作成した G2 を網羅する YAC、コスミド等を材料にしてさらに研究をすすめることにより、これが明らかにされることが期待できる。

## 審査結果の要旨

胃癌は日本で最も頻度の高い悪性腫瘍であるが、その発生・進展の分子機構は不明の点が多い。本論文は、胃発癌過程に関与する癌抑制遺伝子ポジショナルクローニングを最終目的として、胃癌検体における全ゲノムスクリーニングの結果、肺癌、乳癌、前立腺癌などでも欠失が報告されている第16番染色体長腕(16q)の欠失が示唆された点に着目し、共通欠失領域の解析研究を行ったものである。

A) 胃癌手術検体(分化型18例、未分化型6例)を材料に、16q22-q24に存在する14個のマイクロサテライトマーカーを用いて欠失の詳細を解析した。その結果、3カ所の共通欠失領域G1(16q22,18cM, 38%), G2(16q24.1-q24.3, 3cM, 63%), G3(16q24.3, 9cM, 41%)が同定された。これらは肺癌、乳癌、前立腺癌の共通欠失領域とオーバーラップし、ことにG2は非小細胞肺癌における共通欠失領域とほぼ完全に一致した。

B) 16qのG2領域に、胃発癌に関与する癌抑制遺伝子存在の可能性が考えられたので、この領域に局在する癌抑制遺伝子をデータベース検索したところ、近年乳癌に関連する癌抑制遺伝子として16q24.2にマップされた細胞接着分子cadherinファミリーの*H-cadherin* (*CDH13*) 遺伝子が候補と考えられた。ことにG2の中でも高頻度に欠失する領域*D16S534*, *D16S422*を含むYAC contigを用いて*CDH13* 遺伝子との位置関係を確認したところ*D16S534*, *D16S422*は共に*CDH13* 遺伝子に局在した。

C) *CDH13* 遺伝子の構造を決定し、発現、変異、エピジェネティックなレベルでの変化と胃癌との相関を調べたところ(1) RT-PCR法による*CDH13* 遺伝子の mRNA 発現は調べた胃癌細胞株全てで欠如していた。(2) 5'近傍領域、エクソン-イントロン接合部を含むタンパクコード領域全長のPCR-SSCP法によるスクリーニングでは、調べた胃癌細胞株・組織検体に変異は検出されなかった。(3) 遺伝子発現調節領域を含む可能性の高い5'近傍のGC rich領域は、胃癌組織も正常胃粘膜も全て高度にメチル化されたアリルを有し、胃癌におけるメチル化と mRNA 発現レベルとの相関は証明できなかった。

本研究の意義は、胃癌の発生・進展に関与する癌抑制遺伝子を同定するため、胃癌では未検討の16qについて検索し、高頻度の欠失を確認すると共に、高頻度欠失領域G2(16q24.1-q24.3)に存在する候補癌抑制遺伝子*CDH13*について、その変化と胃癌の関連を調べた点にある。これらの知見は*CDH13*が胃癌発生・進展に直接関与する可能性は少ないながらも、G2領域が他臓器癌の高頻度共通欠失領域とも重複しており、未知の重要な癌抑制遺伝子が存在する可能性を示した点が評価され、学位に値するものと考ええる。