

氏 名（本籍） ^{やま}山 ^{かわ}川 ^{ひろ}洋 ^{みつ}光

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 1 5 5 号

学位授与年月日 平 成 11 年 3 月 3 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 平 成 4 年 3 月 31 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 子宮内膜癌の発生・進展に
関与する癌抑制遺伝子の
同定の試み
～第 10 番染色体長腕 q25-q26 の
100-kb の共通欠失領域の
解析～

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 矢 嶋 聰 教授 佐 藤 靖 史

教授 野 田 哲 生

論 文 内 容 要 旨

子宮内膜癌は、本邦において最近10年間で、発生頻度は倍増し、子宮癌全体に占める割合も30%を越え、今後も増加するものと考えられる。現在のがん治療の基本は早期発見・早期治療であり、子宮内膜癌においてもこの基本は重要である。子宮内膜癌の早期発見のために子宮内膜細胞診等が施行されているが、偽陰性率が10～20%と高く、早期発見・早期治療のためには、発癌メカニズムを理解したうえで診断・治療に当たることが重要である。癌の発生・進展過程において、多段階的に癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常が複数個蓄積していることが明らかになってきており、大腸癌等では詳細に解明されてきているが、子宮内膜癌における多段階発癌過程はほとんど解明されていない。本研究は、子宮内膜癌の診断・治療成績の向上のために、癌の発生・進展に関わる分子機構を遺伝子レベルで明らかにすることを目的とする。

これまでに、子宮内膜癌において第10番染色体長腕q25-q26の790-kbの領域に高頻度の欠失を明らかにしたが、今回、その共通欠失領域を詳細に解析するため、この領域をカバーするYACからサブクローニングしたコスミドクローンによるコンティグを構築した。その解析の結果、共通欠失領域は互いに重なり合う5つのコスミドクローンでカバーされた。更に、これら5つのコスミドクローンをプローブとし、子宮内膜癌患者の新鮮凍結標本を用いてdual-color FISH法を行った結果、共通欠失領域は3つのコスミドクローンでカバーされた。更に、BACクローンによりこの領域をカバーしたが、この共通欠失領域は1つのBACクローンに含まれており、パルスフィールドゲル電気泳動の結果、そのサイズは約100-kbであることが明らかとなった。また、この領域には*Not I*, *Sma I*, *Sal I*等のいわゆるレアカッターサイトが集中している領域があり、CpG islandの存在が示唆された。これらの事実は、同部に癌抑制遺伝子が存在する可能性を示唆している。

アレロタイプ解析は癌抑制遺伝子の存在領域を検索するために種々の癌について行われてきたが、これまでにこの結果をもとにして*SMAD4*, *PTEN*などの癌抑制遺伝子が単離されている。子宮内膜癌においても、これまでにNagaseらが10q25-q26の高頻度のLOHを報告している。また、10q25-q26のLOHは、前立腺癌、神経膠芽腫、悪性黒色腫、non-Hodgkin'sリンパ腫においても報告されており、様々な癌に関与する癌抑制遺伝子がこの領域に存在することが示唆されている。特に、Komiyaらにより前立腺癌において3つの共通欠失領域が報告されているが、このうち一つの領域が本研究で得られた共通欠失領域と一致している。前立腺と子宮内膜は男性ホルモン、女性ホルモンの違いはあるが、どちらも性ホルモンの影響を受けている臓器であり、この領域に存在する癌抑制遺伝子の異常が癌の発生・進展に関与している可能性もあり大変興味

深い。

第10番染色体長腕に存在する主な癌抑制遺伝子およびその候補遺伝子として、*PTEN*、*MXI1*、*DMBT1*が挙げられる。

*PTEN*は本研究で検索した領域よりもかなりセントロメア側の10q23.3にマップされた遺伝子であるが、最近になり子宮内膜癌において高頻度の遺伝子変異が報告され、子宮内膜癌の発生・進展に関与する癌抑制遺伝子の一つとして考えられている。本研究で使用した症例でも*PTEN*の遺伝子異常は25例中13例に認められたが、本研究で得られた共通欠失領域でLOHを示している症例は13例中4例のみだった。

*MXI1*はD10S597の近傍に存在する*c-myc*のnegative regulatorの蛋白をコードする遺伝子であり、Peifferらは子宮内膜癌の原因遺伝子である可能性を示唆している。しかし、D10S597領域は本研究で得られた共通欠失領域からかなりセントロメア側にはずれている。また、D10S597領域でのLOHは34例中6例(18%)と低かった。

*DMBT1*も本研究で検索した領域よりもセントロメア側の10q25.3-q26.1にマップされた遺伝子であるが、この領域においてhomozygous deletion等は検出されず、本研究で得られた共通欠失領域からはセントロメア側にはずれていた。

これまでに原因遺伝子の局在する領域の塩基配列を決定し遺伝子を同定する手法により、Warner症候群(*WRN*)や膵臓癌(*SMAD4*)等で原因遺伝子が単離されている。本研究では、同様な手法により、子宮内膜癌における癌抑制遺伝子の候補領域を約100-kbという極めて狭い領域に局限したものであり、今後の展開が大いに期待される。

審査結果の要旨

子宮内膜癌は、本邦において最近10年間で発生頻度は倍増し、今後も増加するものと考えられ、臨床的にも非常に重要な疾患である。子宮内膜癌の早期発見のために子宮内膜細胞診等が施行されているが、早期発見・早期治療のためには、発癌メカニズムを十分に理解したうえで診断・治療に当たることが重要である。癌の発生・進展過程において、多段階的に癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常が複数個蓄積していることが明らかになってきており、大腸癌等では詳細に解明されてきているが、子宮内膜癌における多段階発癌過程はほとんど解明されていない。本研究では子宮内膜癌の発生・進展に関与する未知の癌抑制遺伝子を単離・解析することにより、子宮内膜癌の発生・進展に関わる分子機構を解明し、診断・治療に役立てることを目的としている。

これまでに、子宮内膜癌において第10番染色体長腕q25-q26の790-kbの領域に高頻度の欠失が明らかにされているが、今回、その共通欠失領域を詳細に解析するために、この領域をカバーするYACからサブクローニングしたコスミドクローンによるコンティグを構築している。更に、これらのコスミドクローンをプローブとし、子宮内膜癌患者の新鮮凍結標本を用いてdual-color FISH法を施行した結果、共通欠失領域は3つのコスミドクローンでカバーできた。更に、BAC、PACクローンによりこの領域をカバーしたが、この共通欠失領域は1つのBACクローンに含まれており、パルスフィールドゲル電気泳動の結果、そのサイズは約100-kbであることが明らかとなった。また、この領域には*Not I*、*Sma I*、*Sal I*等のいわゆるレアカッターサイトが集中している領域があり、CpG islandの存在が示唆された。これらの事実は、同部に癌抑制遺伝子が存在する可能性を示唆している。これまでに、前立腺癌、神経膠芽腫、悪性黒色腫 non-Hodgkin's リンパ腫において10q25-q26のLOHが報告されており、様々な癌に関する癌抑制遺伝子がこの領域に存在すると考えられる。また、アレロタイプ解析の結果をもとにして*SMAD4*、*PTEN*などの重要な癌抑制遺伝子が単離されており、今回用いた方法は、確立された普遍性のある研究手法である。

本研究における子宮内膜癌の発生・進展に関与する癌抑制遺伝子の単離・解析の試みは、子宮内膜癌の発生・進展に関わる分子機構の解明に大きく寄与すると考えられ非常に意義がある。解析結果は、最終目的である癌抑制遺伝子の単離には至っていないが、子宮内膜癌における癌抑制遺伝子の候補領域を約100-kbという極めて狭い領域に局限し、明確で信頼性が高く、世界的にも先駆的な研究という点で非常に独創的であり、今後の展開を大いに期待させるものである。したがって本研究は、医学博士の学位に十分に値するものと評価する。