

氏 名（本籍）	すず 鈴 木 明 彦
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 6 7 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 2 年 3 月 2 3 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) 外 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	乳 癌 の 発 生 進 展 に 関 わ る 新 規 癌 抑 制 遺 伝 子 に 関 す る 研 究

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 里 見 進 教 授 野 田 哲 生
	教 授 名 倉 宏

論文内容要旨

我が国における死亡原因の第一位は癌であり、なかでも乳癌は急速にその患者数が増加している。また乳癌は、日本人で高頻度にみられる他の胃癌や大腸癌、肺癌等と異なり、その好発年齢が比較的若年の40代といういわゆる社会的な生産活動の中心となるべき壮年層にあり、今後最もその克服をめざした研究の成果が求められている癌のひとつである。しかしながら、その発癌メカニズムにはいまだ不明な点も多く、これを包括的に理解するモデルの構築には至っていない。本研究は、乳癌の発生、進展に関わる癌抑制遺伝子を新規に同定単離し、最終的には乳癌の新たな治療法の開発に寄与することを目的としている。

始めに、癌抑制遺伝子の存在候補領域を限局するために、これまでも乳癌を始めとする様々な癌で染色体の欠失が報告されている、第8番染色体短腕8p12-p21の約17cMの範囲にマップされた11種類の2塩基繰り返し配列（マイクロサテライトマーカー）を用い、34例の日本人散发性乳癌組織由来のDNAと、それぞれに対応するリンパ球由来のDNAを対象として、loss of heterozygosity (LOH) 解析を行った。その結果D8S131から、D8S540までの約5cMと推定される共通欠失領域を同定することができた。この共通欠失領域内の最低1つ以上のマーカーにLOHを認めたのは34例中19例(56%)であったが、LOHの有無と、臨床的及び、病理学的因子との間に、統計学的有意差はなかった。また、*BRCA1*、*BRCA2*とは関連していない家族性乳癌家系の連鎖解析による報告で、もっとも高いlod scoreを示したマーカーはD8S137であったが、このマーカーはこの共通欠失領域の中に含まれている。

*hEXTIL*は今回の乳癌におけるLOH解析で明らかとした5cMの領域の中に存在している遺伝子で、共同研究者らが新規に同定した。この遺伝子は整形外科領域の家族性に悪性腫瘍を好発するHereditary multiple exostoses (EXT)の原因遺伝子として単離された*EXT1*遺伝子と高い相同性を有しており、癌抑制遺伝子の候補である。私達のもとには残念ながら家族性乳癌家系はないため、一般の乳癌症例22例を用いて*hEXTIL*の変異解析を全翻訳領域の塩基配列決定によって行った。更に共同研究者らとともに、乳癌以外で8番染色体短腕にLOHの報告されている腫瘍といくつかの培養腫瘍細胞株、整形外科領域の軟部組織悪性腫瘍の変異解析をPCR-SSCP法により行った。結果は数種類の遺伝的多型と思われる変化が指摘されたのみで、残念ながらアミノ酸変化を伴う点突然変異や、タンパク合成の中断をきたすnonsense変異、frameshift変異といった変異は検出されなかった。しかしながら、1例のみではあるが、9bpの挿入変異を甲状腺癌患者に発見した。この変異は胚細胞変異であり、この症例でAsp, Glu, Alaの3アミノ酸が挿入される。健常人50人には全く見られなかったが、希な多型であること

は否定できない。

hEXT1L 遺伝子は、我々の探している癌抑制遺伝子でないと考えられるため、私は本研究で同定した 5cM の領域を詳しく検索するために、この領域をカバーする Bacterial artificial chromosome (BAC) コンティグの作成を試みた。40 あまりの BAC クローンによって大小 3 つのコンティグが領域内に構成されたが、それぞれのコンティグ間にはカバーしきれないギャップがあり、その全体の完成には至らなかった。最新のデータベースによる検索では、D8S131 から D8S540 の間には完全、不完全なものも含めて約 40 ほどの EST が登録されているが、候補遺伝子を絞り込むためには、ホモ欠失領域の検索などの工夫が必要であると考えている。

癌が遺伝子の異常の蓄積によって生じる病気であることは、疑いようの無い事実であり、それぞれの癌の悪性度が違うのも、放射線や抗癌剤の治療に対する抵抗性が違うのも、この遺伝子異常の組み合わせパターンの違いによる結果であると考えられる。乳癌の発生、進展に關与する遺伝子をこの領域から発見し、機能を解析し、将来の遺伝子をターゲットとした治療に応用するため、更なる研究の継続が重要である。

審査結果の要旨

我が国における死亡原因の第一位は癌であり、なかでも乳癌は急速にその患者数が増加している。これまでに、乳癌の克服をめざした分子生物学的手法による研究が数多く行われてきたが、その発癌メカニズムにはいまだ不明な点も多く、これを包括的に理解するモデルの構築には至っていない。本研究は、乳癌の発生、進展に関わる癌抑制遺伝子を新規に同定単離し、最終的には乳癌の新たな診断と治療法の開発に寄与することを目的とした。

始めに、癌抑制遺伝子の存在候補領域を絞り込むために、第8番染色体短腕 8p12-p21 の約 17cM の範囲にマップされた 11 種類の 2 塩基繰り返し配列（マイクロサテライトマーカー）を用い、34 例の日本人散发性乳癌症例を対象に、loss of heterozygosity (LOH) 解析を行った。その結果 D8S131 から、D8S540 までの約 5cM と推定される共通欠失領域を同定した。この染色体領域における LOH の報告は、数多く行われているが、領域を 5cM という範囲にまで限局できたのは、本研究が初めてである。この共通欠失領域内の 1 つ以上のマーカーに LOH を認めたのは 34 例中 19 例 (56%) であったが、LOH の有無と、臨床的及び、病理学的因子との間に、統計学的有意差はなかった。

次に、LOH 解析で明らかとした 5cM の領域の中に新規に同定した、*hEXTIL* 遺伝子について変異解析を行った。この遺伝子は Hereditary multiple exostoses (EXT) の原因遺伝子として単離された *EXT1* 遺伝子と高い相同性を有しており、癌抑制遺伝子の候補である。一般の乳癌症例 22 例と、乳癌以外で 8 番染色体短腕に LOH の報告されている腫瘍、培養腫瘍細胞株、軟部組織悪性腫瘍の標本を用いて変異解析を行った。結果は、アミノ酸変化を伴う点突然変異や、nonsense 変異、frameshift 変異は検出されなかったが、5 種類の遺伝的多型と思われる塩基置換を、世界で初めて検出した。さらに、1 例のみではあるが、胚細胞性の 9bp の挿入変異を甲状腺癌患者に発見した。

最後に本研究では、LOH 解析により同定した 5cM の領域を詳しく検索するために、この領域をカバーする bacterial artificial chromosome (BAC) コンティグの作成を試み一定の成果をあげた。今後この領域を研究するにおいて、極めて有用な研究材料となることが期待できる成果を得た。

以上、本研究は、科学的に明確で適切な方法の基に構成されており、乳癌の発癌メカニズムを解明する上で今後の研究の指標となるべき新規の知見も多い。よって本研究は学位授与に値するものである。