

氏名 原 田 英 樹
 学位(専攻分野) 博士 (医学)
 学位記番号 論医博第1708号
 学位授与の日付 平成12年3月23日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文題目 Lymph Node metastasis Is Associated with Allelic Loss on Chromosome 13
 q 12-13 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma
 (食道扁平上皮癌におけるリンパ節転移は第13番染色体長腕12-13のヘテロ接
 合性の消失と関連する)

論文調査委員 (主査) 教授 野田 亮 教授 山岡義生 教授 今村正之

論 文 内 容 の 要 旨

近年の診断治療技術の進歩にかかわらず、食道癌は本邦での悪性新生物による男性の死因で第6位を示しており予後不良である。その予後不良の一つは早期からリンパ節転移を来すことにある。我々は、食道扁平上皮癌の全常染色体のアリロタイプ解析を行い、第13番染色体長腕のヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity; LOH) とリンパ節転移とが有意に相関することを示してきた。そこで第13番染色体長腕 (13q) の LOH の標的遺伝子を明らかにするために本研究を行った。実験は外科的に切除された食道扁平上皮癌 60 症例を用いて、polymerase chain reaction (PCR) 法によるマイクロサテライト多型性マーカー 18 個の LOH 解析を行い、13q の詳細な欠失地図を作製した。その結果、少なくとも1つのマーカーで LOH を示した症例は 34 症例 (56.7%) で、臨床病理学的諸因子との検討の結果、13q の LOH はリンパ節転移とのみ有意な関係を示した ($p = 0.0053$)。各マーカーにおける LOH の頻度では 13q 12-13 の多型座位 D 13 S 260 (43.7%), D 13 S 171 (38.6%), D 13 S 267 (43.6%) で高頻度に LOH を認めた。さらに各マーカーにおける LOH と臨床病理学的諸因子との関係を検討すると、D 13 S 171 の LOH とリンパ節転移とのみ有意な関係を示した ($P = 0.0441$)。D 13 S 260, D 13 S 171, D 13 S 267 は家族性乳癌に関与する癌抑制遺伝子の1つである *BRCA 2* 遺伝子の近傍に位置するマーカーであるため、*BRCA 2* 遺伝子が 13q の標的遺伝子である可能性が示唆された。そこで *BRCA 2* 遺伝子の変異の有無を PCR-single-strand conformational polymorphism (SSCP) 法でスクリーニングし、変異の可能性がある場合は、直接シーケンス法を行い塩基配列を決定した。その結果7つの塩基置換を検出したが、腫瘍特異的ではなく全て多型性変化と考えられた。さらに *BRCA 2* 遺伝子の mRNA の発現を 31 株の食道癌細胞株を用いて RT-PCR 法で調べたが、全ての細胞株において正常な転写産物が検出され、*BRCA 2* 遺伝子は 13q の LOH の標的遺伝子でないと考えられた。13q の LOH 解析においては、13q 14 に位置する癌抑制遺伝子 *RB 1* 遺伝子内のマーカーでも高頻度に LOH を認めた (34.7%)。しかし臨床病理学的諸因子との検討では、リンパ節転移を含めて各諸因子との間に有意な相関を認めなかった。また Westernblot 法により、31 株の食道癌細胞株における *RB 1* タンパクの発現を検討したが、発現を認めなかったのは 2 株 (6.5%) のみであったことより、*RB 1* 遺伝子も 13q の LOH の主要な標的遺伝子でないと考えられた。以上の結果から、13q 12-13 に食道扁平上皮癌のリンパ節転移に関与する新規の癌抑制遺伝子が存在する可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

著者らは、食道扁平上皮癌の全常染色体のアリロタイプ解析を行い、第13番染色体長腕 (13q) のヘテロ接合性の消失 (LOH) とリンパ節転移とが有意に相関することを示してきた。今回著者は、13q の LOH の標的遺伝子を明らかにするために本研究を行った。実験は外科的に切除された食道扁平上皮癌 60 症例を用いて、PCR 法によるマイクロサテライト多型性マーカー 18 個の LOH 解析を行い、13q の詳細な欠失地図を作製した。その結果、13q 12-13 の多型座位で高頻度に LOH

を認め、13q12-13の多型座位の一つD13S171のLOHとリンパ節転移とのみが有意な関係を示した。13q12-13には家族性乳癌に関与する癌抑制遺伝子BRCA2遺伝子が存在するため、BRCA2遺伝子の変異の有無をPCR-SSCP法、直接シーケンス法で解析した。その結果、7つの塩基置換を検出したが、腫瘍特異的ではなく全て多型性変化と考えられた。さらにBRCA2遺伝子のmRNAの発現を31株の食道癌細胞株を用いてRT-PCR法で調べたが、全ての細胞株において正常な転写産物が検出され、BRCA2遺伝子は13qのLOHの標的遺伝子でないと考えられた。

以上の結果から、13q12-13に食道扁平上皮癌のリンパ節転移に関与する癌抑制遺伝子が存在する可能性が示唆された。

以上の研究は食道癌のリンパ節転移を制御する癌抑制遺伝子の同定ならびに予後因子の解明に貢献し、食道癌の診断・治療技術の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年1月5日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。