

氏 名	ひがし 東 新
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2372 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Allelic Imbalances on Chromosome 20 in Human Transitional Cell Carcinoma (ヒト移行上皮癌における第20染色体上対立遺伝子不均衡に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 丹 羽 太 貫 教 授 野 田 亮 教 授 小 川 修

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト膀胱癌での遺伝子変異に関する研究では、染色体 9p および 9q をはじめとし、第 4, 8, 10, 11, 13, 14 および 17 染色体で LOH が報告されている。マウスの化学膀胱発癌モデル研究で感受性 NON/Shi 系と抵抗性 C57BL/6 系の間で、予後に影響する 2 つの量的形質遺伝子座がマウス第 2 と 6 染色体上にマップされた。後者に対応するヒト第 7 染色体上には膀胱癌に関連する遺伝子が既に報告されていた。しかし、前者に対応するヒト第 20 染色体については膀胱癌との関連は明らかでなかった。遺伝子の配列は種を越えて保存されていること（シンテニー）が近年ますます明らかになりつつある。シンテニーに基づいて、動物モデルの量的形質遺伝解析の結果をヒトへ外挿することを試み、ヒト尿路移行上皮癌 70 例について第 20 染色体の遺伝的変異を検討した。

サンプルは、尿路移行上皮癌の腫瘍組織と対応した患者末梢血より抽出した DNA を使用した。腫瘍は膀胱全摘、腎尿管全摘、経尿道的膀胱腫瘍切除（TUR）により得られた。病理診断は UICC 分類に従い、手術時に他のパラメータ情報を採取した。

ヒト 20pq 上の適当なマイクロサテライトを選択し、上記 DNA をテンプレートとして、蛍光ラベルプライマーを用い PCR 増幅を行った。生成物をオートシーケンサーでシグナルピークを解析し、正常組織で 2 つアレルが検出されるヘテロ接合体で、腫瘍でのシグナル比の変化が定めた閾値を越えた場合、アレル欠損/増加とした。

11 の遺伝子座を検討の結果、70 例中 26 例（37.1%）が最低 1 つの異常を示した。各遺伝子座では *D20S103* で 39.3%（最高）、*D20S100* で 13.8%（最低）の異常を認めた。これらの分布は、20p の *D20S1145* と *D20S112* の間で 17 例、20q の *D20S438* と *D20S55* の間で 16 例となった。

ヒト 20q には癌遺伝子 *src* があるが、*src11* では異常は多くなかった。遺伝子異常とグレードの関係では、G3 腫瘍の 7/14 例（50%）、G1-2 腫瘍 17/53 例（31.2%）にみられたが差は有意ではなかった。次に患者予後を手術から死亡までの月単位で検討した。観察期間は、平均 33.8 ケ月（2 から 103 ケ月）で、癌死 13 と他因死 8 を認めたが、全体では第 20 染色体の異常で生存率に有意差を認めなかった。手術方法を TUR に限ると（*n*=37）20q の allelic imbalances を持つ患者の生存期間は短い傾向があったが（*P*=0.16）腫瘍グレードの生存期間への相関（*P*=0.057）を上回るものではなくさらにサンプル数を増やした検討が必要であった。

以上、膀胱癌でこれまで注目されなかった第 20 染色体に、異常が検出された。多くの臓器での発癌は、宿主と環境の要因が複合する過程である。発癌の感受性を決める宿主遺伝要因は多くの遺伝子の多形的な作用の和からなり、本質的に量的である。他方、動物モデルを用いて近交系間の癌感受性の差の解析が集められ、その中には種を超えて発癌過程に影響する遺伝子もあると考えられる。これらの遺伝子の個別の対応については、遺伝子そのものが明らかにならないと確定はしないが、LOH など粗大な染色体異常では、種間で遺伝子の配列が保存されるという仮定に基づき、動物モデルから推定された遺伝子座がヒト癌の遺伝子異常に Allelic imbalance の形で関与しているか否かをテストする手段となる。本研究はこのような

アプローチがヒト癌の遺伝的研究に有用であることを示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

マウスを用いた化学膀胱発癌モデルでは NON/Shi 系は感受性を、また C57BL/6 系は抵抗性を示す。この 2 系を用いた遺伝子解析により、マウス第 2 および第 6 染色体上に予後と関連する 2 つの量的形質遺伝子座がマップされている。本研究ではマウス第 2 染色体に対応するヒト第 20 染色体に着目し、ヒト尿路移行上皮癌での変異を検討した。ヒト第 20 染色体上の 11 遺伝子座を検討した結果、70 例中 26 例 (37%) において最低 1 つ遺伝子座で異常が検出され、遺伝子座ごとの解析においては最高 39.3%、から最低 13.8% の頻度で異常が認められた。また、これらの分布は 20p の D20S1145 と D20S112 の間で 17 例、20q の D20S438 と D20S55 の間で 16 例と高頻度であり、癌関連遺伝子の存在が示唆された。病理学的所見との関係では、G3 の 7/14 例、G1-2 の 17/53 例に異常がみられ、有意差は無いものの G3 症例に異常の頻度が高い傾向にあった ($P=0.057$)。経尿道的切除を行った 37 症例に限ると 20q の異常を持つ患者の生存期間が短い傾向があったが、有意差は無く ($P=0.16$) また生存率にも有意差は認めなかった。

マウスモデルでのシンテニーを利用した本研究は、今まで着目されなかったヒト膀胱発癌における第 20 染色体異常の意義を明らかにしたものであり、今後のヒト癌遺伝子異常の探索に寄与するところが多い。従って、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 13 年 2 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。