

氏 名	もも 桃 い 井 ひろ 寛 ひと 仁
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2426 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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	Genetic changes in human intrahepatic cholangiocarcinoma (肝内胆管癌における遺伝子変異)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 今 村 正 之 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

肝内胆管癌 (ICC) は原発性肝癌の中で肝細胞癌 (HCC) に継いで高頻度であるが、HCC におけるウイルス感染のような明確な発癌の背景因子はない。それゆえに ICC に関与する遺伝子変異を解明することは、予後の悪い ICC の診断・治療に寄与するものと考えられる。本研究では全ゲノムスケールでの遺伝子欠失を解析して癌抑制遺伝子候補を同定するとともに、マイクロサテライト不安定性 (MSI) の関与についても解析した。また ICC では癌抑制遺伝子 p53 の変異の頻度が低かったため、MDM2 の高発現による p53 機能抑制の重要性について検討した。

まず、ICC における包括的なヘテロ接合性消失 (LOH) の解析を目的として22例の ICC 症例において、216の蛍光標識マイクロサテライトマーカーを用いて全染色体上に 2.5cM の間隔でヘテロ接合性消失 (LOH) 解析を行った。その結果、全例の30%以上に LOH を認める高頻度欠失部位が計21カ所同定され、そのうち 6q (3 loci), 4q (2 loci), 9q, 16q, 17p の 8 カ所は過去の同じマーカーを用いた HCC44 症例の検討の結果と重複しており、HCC と共通の癌抑制遺伝子の関与が示唆された。LOH 解析から ICC の発癌に関与したと思われる候補癌抑制遺伝子は p73, IGF1R, p15, p16, E-cadherin であった。症例毎の LOH 頻度は、腫瘍の個数、大きさ、臨床病期と相関して優位に高く、LOH の蓄積が腫瘍の進展に関与していることが示唆されたが、ICC の最も重要な独立した予後因子であるリンパ節転移の有無と LOH 頻度は相関しなかった。肉眼分類では MF (腫瘍形成型) type に有意に LOH 頻度が高く、ICC の肉眼型つまりは起源細胞の違いによって特徴的な遺伝子変化が存在すると考えられた。

ついで同じ22例の ICC において8ローカスについて MSI の解析を行い、DNA ミスマッチ修復機能の異常と ICC の発癌・進展の関係を検討した。8 マーカー中3 マーカーで MSI が認められたものを MSI 陽性形質 (MSI+) とした。4 例が MSI+ で、肉眼分類は全例 MF+PI (胆管周囲浸潤型) type であった。この結果も ICC の肉眼型による発癌過程の違いを支持するものであった。MSI 形質と予後・腫瘍の悪性度との関連は認められなかった。

多くのヒト癌では癌抑制遺伝子 p53 の変異による p53 蛋白の機能抑制が癌の進展に関与していることが知られているが、今回 ICC28 例で p53 遺伝子変異の解析を行ったところ、3 例 (10.7%) に変異を認めただけであった。そこで、p53 転写活性抑制機構として p53 蛋白への癌関連蛋白 MDM2 の結合が ICC の発癌・進展へ関与している可能性を探るために、ICC60 例のパラフィン切片で抗ヒト MDM2 マウスモノクローナルを用い免疫組織化学染色を行いその発現を調べるとともに、60例中凍結標本の揃う22例で癌部・非癌部より DNA を抽出して MDM2 遺伝子の増幅を Real-time quantitative PCR にて測定した。

22例中7例 (31.8%), つまり MDM2 の関与が大きいとされてきた軟部腫瘍よりも ICC では高い頻度で癌部において MDM2 遺伝子の増幅が確認され、これらの症例はすべて蛋白レベルでも MDM2 を強発現していた。

さらにこれらの症例では p53 遺伝子の変異は認められなかった。全60例中 MDM2 蛋白の強発現は25例 (41.7%) に認めた。以上から p53 蛋白の活性異常が ICC において重要な役割をはたしていることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

肝内胆管癌の発生・進展に関与する遺伝子変化の解明を目的として、臨床検体を用いた包括的 LOH 解析、マイクロサテライト不安定性 (MSI) の解析と p53 遺伝子の関与の検討が行われた。

LOH 解析では、癌抑制遺伝子の存在部位候補として、高頻度 LOH 部位が計21カ所同定された。LOH 頻度は、腫瘍の個数、大きさ、臨床病期と相関して進行例に有意に高く、LOH 蓄積の腫瘍悪性度への関与が示されたが、リンパ節転移の有無とは相関がなかった。肉眼型では腫瘍形成型に有意に LOH 頻度が高く、起源細胞の違いによって特徴的な遺伝子変化が存在すると考えられた。

MSI の解析では22例中 4 例が MSI 陽性形質で、すべて胆管周囲浸潤+腫瘍形成型であった。このことも肉眼型による発癌過程の違いを支持するものであった。MSI 形質と予後・腫瘍の悪性度との関連は認められなかった。

p53 遺伝子の変異の頻度は他のヒト癌に比べ低かったため、他の p53 転写活性能抑制機構の候補として癌関連蛋白 MDM2 による p53 機能抑制について検討した。p53 遺伝子の変異を認めなかった症例の約40%に MDM2 遺伝子の増幅もしくは蛋白の高発現が認められ、MDM2 蛋白との結合による p53 機能抑制が癌進展に重要であることが示唆された。

以上の研究は予後の悪い肝内胆管癌の発癌・進展のメカニズムの解明に貢献すると共に、その診断・治療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14年1月16日実施の論文内容とそれに関連した研究分野なら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。