

氏 名	まつ お こう いち 松 尾 宏 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1802 号
学位授与の日付	平 成 15 年 1 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	<i>SIAH1</i> Inactivation Correlates With Tumor Progression in Hepatocellular Carcinomas (<i>SIAH1</i> の不活化と肝細胞癌の進展との相関に関する研究) 松尾宏一, 佐藤誠二, 岡部寛, 野村明成, 前田敏樹, 山岡義生, 猪飼伊和夫 (主 査)
論文調査委員	教 授 野 田 亮 教 授 千 葉 勉 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

肝発癌には多くの遺伝子の関与が報告されているが、その詳細な機序は不明である。発癌に関与する癌抑制遺伝子を同定する手段の一つにヘテロ接合性の喪失 (LOH) 解析があり、以前当教室では肝癌症例の全染色体上にわたる LOH 解析により各症例での共通欠失領域が複数の染色体上に存在し、その欠失が臨床因子と相関することを報告した。その中で脈管侵襲との相関が指摘された第16染色体に着目し、詳細な LOH 解析による肝癌関連新規遺伝子の同定を試みた。

第16染色体上に35個のマイクロサテライトマーカーを設定し、肝癌59症例を用い LOH 解析を行った結果、3つの共通欠失領域 (16q12.1, 16q22.1, 16q24.2) を認めた。16q22.1, 16q24.2 の2領域では、E-カドヘリン、H-カドヘリンなど癌抑制遺伝子やその候補が既に報告されているが、16q12.1 には肝発癌との関連を示唆する遺伝子の報告がなく、肝癌に関連する新規遺伝子が存在する可能性が高いと考えられた。

NCBI のゲノムデータベースを検索し、共通欠失領域として同定された 16q12.1 上の2つのマーカー、D16S541 と D16S3396 の位置の同定を試みた。D16S3396 の位置は確認できたが、D16S541 はセントロメアと D16S3396 との間に存在するとのみ判明した。そこで遺伝子の検索範囲をセントロメアと D16S3396 の間に拡大し、NCBI のデータベースにより検索すると14の既知遺伝子が確認された。

これら14遺伝子の中に癌抑制遺伝子が存在すれば腫瘍部での遺伝子発現が低下していると考えられるため、16q12.1 に LOH を認めた肝癌10症例を用い、各遺伝子の腫瘍部・非腫瘍部での発現を RT-PCR 法により比較した。

非腫瘍部の肝組織では8遺伝子が発現し、*SIAH1* (Seven in absentia homolog 1) だけは全例で腫瘍部での発現低下を認めたため、*SIAH1* が癌抑制遺伝子であることが示唆された。

SIAH1 の発現低下の機序を解明するため、*SIAH1* 遺伝子の変異の有無を検索した。肝癌35症例及び肝癌細胞株3種類を用い SSCP を行ったところ1例で他と異なる band を認め変異が疑われた。しかし、sequence 解析では腫瘍部・非腫瘍部とともに codon50 で A から G への transition を認めるのみで塩基の多型 (SNP) であると判明し、変異のないことが確認された。

次に定量的 PCR 法により *SIAH1* の遺伝子発現量を測定し 16q12.1 の LOH との相関につき検討した。16q12.1 に LOH を認めた症例では LOH のない症例に比べ腫瘍部での *SIAH1* の発現が有意に減少し、*SIAH1* の発現低下の機序の1つに LOH による欠失があると考えられた。

さらに、*SIAH1* の腫瘍部での発現低下の臨床的重要性を検証するため、肝癌40症例の *SIAH1* 発現量とその背景にある臨床因子との相関につき検討を行った。分化度の低い症例、腫瘍径の大きな症例、病期の進行した症例において *SIAH1* の発現が有意に低下していた。この結果から、*SIAH1* の発現低下は肝癌の進展に何らかの影響を与えていることが示唆された。

今回の研究では、LOH 解析及び定量的 PCR 法を用いることにより新規肝癌関連癌抑制遺伝子の候補として *SIAH1* を同定した。*SIAH1* は肝癌で遺伝子発現が低下し、その機序の1つに LOH によって示される欠失がおこっていることが確認

された。また、背景にある臨床因子との相関を検討することにより、SIAH1 の発現低下が肝癌の進展に関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究ではヘテロ接合性の喪失（LOH）解析及び定量的 PCR 法により肝癌関連新規遺伝子として SIAH1（Seven in absentia homolog 1）が同定された。

申請者は肝癌59症例を用いた詳細な LOH 解析により第16染色体上に3ヶ所の共通欠失領域を認めた。このうち 16q12.1 には他の2領域（16q22.1, 16q24.2）と異なり癌抑制遺伝子やその候補の報告がなく、肝癌関連新規遺伝子が存在する可能性が高いと推定している。

16q12.1 の領域には14の既知遺伝子が存在することが確認されたため、これら14遺伝子の腫瘍部・非腫瘍部での発現を RT-PCR 法により比較したところ、SIAH1 のみが全例で腫瘍部における発現が低下しており、癌抑制遺伝子であることが示唆された。

SSCP 及びシーケンス解析にて SIAH1 に変異を認めず、また定量的 PCR 法で測定した腫瘍部での SIAH1 遺伝子発現量は、16q12.1 に LOH のある症例では LOH のない症例に比べ有意に低下し、SIAH1 の発現低下機序の一つは欠失と考えられた。

更に SIAH1 の発現低下は分化度の低い症例、腫瘍径の大きな症例、病期の進行した症例に顕著にみられ、SIAH1 の発現低下は肝癌の進展に関与していることが示唆された。

以上の研究は肝発癌において SIAH1 のもつ重要性の解明に貢献し、また肝癌の進展の機序の解明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12月25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。