

氏名(本籍)	こし かわ とも ゆき 越 川 知 行 (茨 城 県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 3845 号		
学位授与年月日	平成 17 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Maintenance of Genome Integrity and DNA Copy Number Abnormalities in Cancer (がんにおけるゲノムの不安定化機構に関する研究)		
主査	筑波大学教授	医学博士	野口 雅之
副査	筑波大学教授	獣医学博士	八神 健一
副査	筑波大学助教授	博士(獣医学)	杉山 文博
副査	筑波大学講師	博士(医学)	鈴川 和己
副査	筑波大学講師	博士(医学)	宮永 直人

論文の内容の要旨

がんの表現型は、形態異常、極性異常、転移・浸潤能、増殖能、薬剤感受性等に特徴づけられる。この表現型は様々な遺伝子変化によって規定されているが、DNA コピー数異常はこれらの表現型に相関するがんの Genotype の一つといえる。様々な発がんの危険因子(イニシエーター)によるがん化が、がん遺伝子の活性化またはがん抑制遺伝子の不活性化を伴い細胞の増殖や分裂に関与することは知られており、臨床で見られるがんでは転移浸潤能や薬剤耐性能など様々な表現型を示す。

本研究では、① DNA コピー数の変化と遺伝子の発現レベルの相関を明らかにし、② DNA コピー数異常の獲得と細胞の表現形質の変化を関連付けることで、がんにおける DNA コピー数異常の意義について考察した。

(対象と方法)

- 1) DNA-PK に機能異常を含み放射線感受性であるマウス乳がん由来の SX9 細胞株とその親株 SR-1 細胞株の遺伝子発現プロファイルと DNA コピー数の変化を比較した。
- 2) p53 遺伝子欠損マウスの胎児繊維芽細胞を *in vitro* で長期培養する事によって生じる表現型の変化と DNA コピー数の変化を比較し、細胞の悪性化と DNA コピー数異常の発生過程を比較した。

(結果)

- 1) 4Gy の γ 線照射によって SX9 細胞は G₂ 期の蓄積を示した。SX9 細胞の DNA コピー数異常の多くはその親株である SR-1 細胞と共通の染色体領域で認められたが、9 (cent-E2), 11 (cent-A3), 12 (C1-E) 領域の増幅は SX9 細胞特異的なものであった。それらの領域に存在する遺伝子の発現は有意に上昇していた。SX9 細胞の γ 線照射後の遺伝子発現プロファイルを解析したところ、細胞周期関連遺伝子、プロテインキナーゼ C 関連遺伝子、シグナル伝達関連遺伝子群が各々類似する挙動を示した。

- 2) *p53* 遺伝子欠損細胞株は初代培養より 6 週目に急激な増殖速度の増加を示し、25 週目には足場依存性を失った細胞が認められた。培養初期より多くの倍数性異常が認められたにもかかわらず、遺伝子コピー数の異常は 15 週目以降に生じた。その多くは染色体の全領域に渡る変化であったが、足場依存性を失った 25 週目には染色体領域の部位特異的な DNA コピー数の異常が独立した 2 細胞株にそれぞれ認められた。

(考察)

- 1) 放射線照射後の SX9 細胞で DNA コピー数異常の認められた領域に存在する遺伝子の発現が有意に上昇していたことから、CGH 法で検出される DNA コピー数の変化は遺伝子の発現変化を通じ表現型獲得に寄与している可能性が示された。遺伝子発現解析によって細胞膜の損傷を介したアポトーシスの経路が関与している可能性が示唆されたことから、このような網羅的解析法が機能推定に有用である事が示唆された。
- 2) 本研究では *p53* の機能欠損が引き起こす細胞の悪性化と臨床がんの多くに認められる DNA コピー数の変化を関連付けた。DNA コピー数の変化は細胞の悪性化に伴って生じたことから、DNA コピー数異常は細胞の悪性化の指標として有用であることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、① DNA コピー数の変化と遺伝子の発現レベルの相関を明らかにし、② DNA コピー数異常の獲得と細胞の表現形質の変化を関連付けることで、がんの悪性化において染色体全体の増加減少と同様、あるいはそれ以上に DNA コピー数異常の意義が高く、DNA コピー数の変化が悪性化の指標になりうることを示した意義ある論文と考えられる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。