

氏名(本籍)	野口 雅之 (東京都)				
学位の種類	医学博士				
学位記番号	博乙第551号				
学位授与年月日	平成元年10月31日				
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当				
審査研究科	医学研究科				
学位論文題目	ヒト癌遺伝子の発現と増幅の病理組織学的研究 (dissertation形式)				
主査	筑波大学教授	医学博士	中村	恭一	
副査	筑波大学教授	医学博士	稲田	哲雄	
副査	筑波大学教授	医学博士	岩崎	洋治	
副査	筑波大学教授	医学博士	小磯	謙吉	
副査	筑波大学教授	医学博士	濱口	秀夫	

## 論 文 の 要 旨

### 〈目的〉

ヒト癌遺伝子異常の中で最も高頻度に発見される *ras* 遺伝子, *myc* 遺伝子について, それぞれの発現亢進, 遺伝子増幅を胃癌, 肺癌などの人体手術切除材料と剖検材料を用いて分子病理学的ならびに臨床病理学的に検討し, これら癌遺伝子異常を検索することが実際の癌の診断治療にどれだけ貢献できるかを明らかにする。

### 〈材料と方法〉

(1) *ras* 遺伝子については *ras* 遺伝子産物 *ras* p 21に対する単クローン性抗体 RAP-5, V13-259を用いた免疫組織染色, western-blotting法, radioimmunoassay法によって, 胃癌, 大腸癌の手術材料における発現異常を検討した。

(2) 神経芽細胞腫の手術例, 剖検例のホルマリン固定パラフィン包埋材料について *N-myc* 遺伝子の増幅異常を主に *in situ* hybridization法を用いて検討し, 同一ブロックから抽出したDNAの dot blot hybridization法にてこの結果を検証した。次に, ホルマリン固定パラフィン包埋材料から抽出したDNAを用いた dot blot hybridization法で, 主に肺小細胞癌について *myc* 遺伝子群の増幅異常を検討した。

### 〈結果〉

(1) *ras* 遺伝子の発現亢進は胃癌でその68%に認められ、一般に癌組織では正常組織に比べて発現亢進があることがわかった。また、非癌組織（特に、腸上皮化生の一部）も *ras* p 21の発現が亢進している部分があることもわかった。癌組織で *ras* p 21発現亢進があるという事実は、もう一つの *ras* p 21に対する単クローン性抗体 V-13-259を用いた免疫組織沈降-western blotting 法や liquid competition radioimmunoassay 法によって検証された。ただし、その発現亢進の程度は結腸癌でも胃癌でも約0.05  $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein 程度で、正常粘膜の高々2倍ほどしかない。*ras* p 21の発現亢進群と非亢進群で分類比較しても、予後の違いは認められなかった。

(2) 神経芽細胞腫のホルマリン固定材料を用いた in situ hybridization 法では、N-*myc* 遺伝子が20コピー以上の増幅のある症例については十分にN-*myc* 遺伝子増幅異常を検討することが可能であることがわかった。この方法を用いて神経芽細胞腫を検討すると、N-*myc* 遺伝子増幅群と非増幅群との間にはその予後に明らかな有意差があった。また、神経節神経芽細胞腫の1例では、同一腫瘍内でもより分化度の低い小型腫瘍細胞に増幅が強い可能性があることが示唆された。

(3) 肺小細胞癌では47症例中11例にN-*myc* 遺伝子の増幅異常が検出された。この中でN-*myc* 遺伝子の増幅異常のある1例は、原発巣内でもN-*myc* 遺伝子増幅に heterogeneity があり、転移巣でも増幅のあるものとないものが混在していた。また、L-*myc* 増幅例の1例では手術材料にL-*myc* 遺伝子の増幅がないのに対し、剖検時発見された転移リンパ節にはL-*myc* の増幅を認めた。このことは、*myc* 遺伝子の増幅が腫瘍発生というより腫瘍の増悪に果す役割が高いことを示唆している。Ⅲ、Ⅳ期群における *myc* 遺伝子の10倍以上の高度増幅群とそうでないものとの間には、危険率0.06で前者に予後の悪い傾向がみられた。

#### 〈 結 論 〉

胃癌、結腸癌において *ras* 遺伝子産物の発現亢進は、臨床病理学的に大きな意味をもたない。神経芽細胞腫には67%にN-*myc* 遺伝子の増幅例があり、非増幅例に比べてこれらの予後は悪い。肺小細胞癌の24%に *myc* 遺伝子の増幅があり、10倍以上の高度増幅例はその他に比べて予後が悪い傾向にある。神経節神経芽細胞腫および肺小細胞癌において、同一腫瘍内で *myc* 遺伝子の増幅のある部位とない部位がある例を見出した。この事実は、*myc* 遺伝子の増幅という現象が発癌過程のより遅い時期、つまり癌の悪性化に関係していることが推察された。

#### 審 査 の 要 旨

日常の病理検査に提出される腫瘍検体材料、特にホルマリン固定材料を用いて癌遺伝子異常がどこまで検索可能かを蛋白レベル、DNA レベルで解析し、この結果を用いて個々の腫瘍の持つ生物学的特徴の検索に応用する道を開いたという点で評価に値する。多数例の検討が可能になったことで、肺小細胞癌における *myc* 遺伝子増幅がその予後に与える役割が明らかになった。ホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いた dot blot hybridization 法や in situ hybridization 法で *myc* 遺伝子の増幅の

検索が可能になったことにより、分子病理学的に遺伝子異常が検出でき、これによって一つの腫瘍内における遺伝子増幅異常の heterogeneity が証明された。*myc* 遺伝子増幅が発癌とその増悪に果たす役割を解明する上で大きな前進と考えられる。今後、*in situ carcinoma* など、初期癌、早期癌の検討に貢献すること大であると思われる。

よって著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。