

氏 名(本 籍)	小 ^お 田 ^だ 竜 ^{たつ} 也 ^や (東 京 都)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 1,274 号		
学位授与年月日	平 成 6 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科		
学 位 論 文 題 目	ヒト肝細胞がんの多段階発生・進展における遺伝子異常の関与		
主 査	筑波大学教授	医学博士	三 輪 正 直
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	大 川 治 夫
副 査	萬有製薬株式会社つくば研究所所長		
	(筑波大学客員教授)	医学博士	西 村 暹
副 査	筑波大学助教授	医学博士	赤 座 英 之

論 文 の 要 旨

〈目的〉

がんの段階的な発生・進展には遺伝子異常の蓄積が深く関与している事が知られるようになってきた。しかし肝細胞がん(以下、肝がん)においては、その発生・進展に直接関与する遺伝子異常はほとんど知られていないのが実情である。既知のがん遺伝子異常の関与は肝がんにおいては否定的であるが、複数の染色体領域が肝がんで高頻度に欠損している事が報告され、そこに存在している遺伝子の不活化が肝がんの発生進展にも何らかの影響を与えている可能性が示唆された。そこで、本研究では肝がんで最も高頻度に欠損が検出される第17染色体短腕に着目し、その上に存在する p53がん抑制遺伝子の変異を系統的に検出、解析することにより、遺伝子異常と肝がんの進展の関係を明らかにすることを目的とした。

〈対象と方法〉

外科的に切除された169肝がん結節から DNA を抽出し、従来他のがんで p53がん抑制遺伝子の変異が高頻度に報告されているエクソン5-8領域を PCR 法にて増幅し、その変異の有無を SSCP 法にてスクリーニングした後ダイレクトシーケンスにて同定した。

〈結果及び考察〉

49結節(29%)が変異陽性であり、39例の点突然変異は18例の変位と21例の変換より成り(CpG サイトは4例)、他に10例の小欠失が検出された。変異部位は63%がドメインⅣ-Ⅴに集簇しており、特にコドン249が7例で最多であった。この分布は変異の過半数が CpG サイトに集まる大腸がんや G→T 変

換である肝がんと明らかに異なっており、肝がんに特徴的であった。p53の変異パターンはHBV、HCV感染の違いや、慢性肝障害の程度、性別、年齢の各因子、転移の有無とは関連しなかったが、腫瘍の分化度と強く関連し、特に低分化症例には22/41(54%)と高頻度に認められた。一方、RFLP解析の結果p53変異陽性例の95%が第17染色体短腕の欠失を伴っており、肝がんにおけるp53遺伝子の不活化は1本の染色体の欠失と残存染色体上のp53遺伝子の点突然変異という組み合わせで引き起こされる事が判明した。この様に、p53の不活化には2つ以上の段階が関与しており、その原因となる種々の発がん要因によって特定領域(エクソン7-8の中のドメインIV-V)に変異が引き起こされると、肝がんの悪性化がもたらされると考えられた。

このp53遺伝子の不活化と肝がんの進展の関係は「結節内結節肝がん」の異なった領域における解析からも明らかになった。実際、2つの内部結節はそれぞれ異なった変異を有し、周囲の早期肝がん部位ではp53遺伝子異常が検出されなかった。この症例は、肝がんの進展におけるp53がん抑制遺伝子の変異が関与する時期はがんの多段階進展の1つの段階、すなわち、早期肝がんがさらに悪性転化する段階であることを示す直接的な証拠となると考えられた。

一方、肝がんはしばしば複数の結節として存在することがあり、臨床上その起源が多中心発生がんか転移性がんかを鑑別する必要がある。従来、その目的で病理学的診断基準が使われてきたが、しばしば客観性に欠ける事があった。そこで、p53がん抑制遺伝子の点突然変異スペクトラムを各腫瘍の「指紋」として利用し、多結節肝がんのより客観的な鑑別診断を行うことを試みた。26例の患者から採取された58肝がん結節をSSCP法にて解析したところ、65%(17/26)の症例に変異が認めれた。その結果、腫瘍間の変異が異なっていた11症例は多中心発生がん、等しかった6例は転移性がんと遺伝子診断する事が出来た。この様に遺伝子の点突然変異パターンは、多結節肝がんの起源を知る上での指標となる可能性が示された。

審 査 の 要 旨

小田氏の研究は、がんの発生、進展を客観的に解明しようとすることを目的としており、その為に分子生物学的な手法を導入し成果を上げている。

従来、肝がんにおいてはがん遺伝子の活性化が低頻度にしかみられなかった。この手掛かりが少なかった肝がんにおいてp53遺伝子の異常にいち早く着目した氏の研究、「日本の肝がんにおけるp53変異スペクトラム」は、その発生、進展を解明するうえでの貴重なデータを提供した。これは169症例という他に例を見ない多数の検体をSSCP法を活用し精力的に解析したもので、発がんと疫学的背景との関連を充分に考察している。更に、今まで一元的に捉えられていたp53の点突然変異が、それが起こった領域により肝がんの分化度に影響を与えるというユニークな議論を展開している。

多発肝がんの起源を遺伝子的に鑑別診断しようという試みは、臨床分野と分子生物学分野を橋渡しするものとして、今後非常に注目されるべきものであると考えた。以上より、本論文は学位論文として十分に評価できるものと判断した。

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。