

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 緑川 泰

本研究は我が国で癌による死亡原因の上位を占める肝発癌および肝癌の進展において変化する遺伝子群を、オリゴヌクレオチドアレイの手法をもちいて遺伝子発現プロファイルの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 正常肝 8 例、慢性肝炎 6 例 (HB 3 例、HC 3 例)、肝硬変 10 例 (HB 5 例、HC 5 例) を含む非癌部 24 例と、高分化型肝癌 8 例 (HB 3 例、HC 5 例)、中分化型肝癌 12 例 (HB 5 例、HC 7 例)、低分化型肝癌 5 例 (HB 2 例、HC 3 例) を含む癌部 25 例を対象にして約 12000 遺伝子について遺伝子発現プロファイルの解析を行っている。各遺伝子についての発現レベルを多変量解析の一つである主成分分析を用いて解析した結果、肝発癌では明らかに遺伝子の発現プロファイルが変化し、また肝癌の進展においては病理および臨床データの比較において肝癌脱分化 (低分化型肝癌) が唯一の発現プロファイルの変化を有することを示している。さらに random permutation test を含めた Mann-Whitney U test では肝発癌、低分化型肝癌に加えて血管浸潤も統計学的有意に発現プロファイルが変化することを示し、2 群を識別する遺伝子セットの選択を試みている。
2. 1. で既存の統計学的処理では不可能であった高分化型肝癌と中分化型肝癌の分類を、肝癌特有の進展様式である結節内結節像を呈する肝癌を用いて中分化型肝癌へ脱分化する際に上昇する 12 遺伝子と、発現が低下する 4 遺伝

子を同定することに成功した。これら 16 遺伝子は肝癌脱分化に何らかの寄与をしている可能性が示唆されている。

3. 1.で選択された肝発癌において発現が上昇する遺伝子群の中からグリピカン 3 (以下 GPC3) に着目し、GPC3 のモノクローナル抗体を樹立することによりタンパクレベルでの GPC3 の発現上昇をウェスタンブロットを初めて示し、また免疫染色により GPC3 の局在を明らかにした。さらに GPC3 の肝癌患者血清における上昇を、GPC3 血清濃度測定系を確立して証明しえた。このデータは GPC3 が AFP、PIVKAII とならんで肝癌診断用血清腫瘍マーカーとして利用しうることを示唆したものである。

4. さらに増殖を抑制する方向に働くと考えられる GPC3 の肝癌における発現上昇の理由として、cell growth assay により FGF2 と BMP-7 の機能を GPC3 が抑制していることに着目した。特に BMP-7 のシグナル伝達抑制を GPC3 が実際におこなっていることを luciferase assay をもちいて証明している。この事実により GPC3 は細胞増殖を抑制する増殖因子の働きを抑えることにより発癌に有利に働いている可能性を示した。

以上、本論文は遺伝子発現プロファイルを行うことにより今までは着目されていなかった、肝発癌や肝癌の進展に寄与していると考えられる遺伝子群を同定し、さらに肝癌で発現が上昇する GPC3 の診断用肝癌新規腫瘍マーカーとしての実用性を示唆した。以上の理由により本論文は学位の授与に値するものと考えられる。