

論文の内容の要旨

論文題目 肝細胞がんにおける染色体構造異常の網羅的解析

指導教官 広橋説雄 連携教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月 入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 加藤洋人

背景： 肝細胞がんは、主に Hepatitis C virus (HCV) および Hepatitis B virus (HBV) の持続感染を背景として発生する悪性腫瘍であり、アジアのみならず世界的にも高頻度で致死的な腫瘍の一つである。その疫学的な危険因子が確固として周知されている事実と比べ、肝細胞がんの発がん過程における染色体構造異常（染色体欠損、欠失、重複、増幅など）の蓄積過程については、いまだほとんど明らかになっていない。従来、loss of heterozygosity (LOH) 解析および comparative genomic hybridization (CGH) 解析が精力的になされ、肝発がんにおける染色体構造異常に関する知見は年々深まりつつあったのだが、発がんの背景にある分子メカニズムの本態解明に迫るほどの成果は得られていないのが現状である。近年、アレイ CGH (aCGH) 法の開発がなされ、より高解像度・高精度に染色体構造異常の解析をすることが可能になったため、肝細胞がんにおける染色体構造異常を網羅的に解析することを目標として、本研究を遂行した。

対象と方法： 1993 年から 2001 年にかけて国立がんセンター中央病院にて手術的に摘出され、メタノール固定・パラフィン包埋された肝細胞がん臨床検体 87 症例を対象とした。レーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LCM) 法を用い、薄切標本よりがん細胞のみを純粹に打ち抜き、DNA を抽出した。本手法により、非腫瘍細胞のコンタミは最小限に抑えられ、より精度の高いデータを得ることが可能だと考える。aCGH 法の方法論に関しては、学位論文本文中および学位論文文末の参考文献 (18)、(22, 副論文)、(27)、(28)、(29) 中にその詳細を記す。

[別紙 1]

結果と考察： 本研究によって、従来の報告例よりもさらに一段と染色体構造異常領域を狭小化することができた。30% を超える頻度で見られた染色体欠損領域は、1p36.1、 4q21-25、 4q34-35.1、 8p23.3b-11.1、 13q14.1-14.3、 16p13.3、 16q22.1-24.3b、 17p13.3-13.1 および 17p13.3-11 に認め、また、30% を超える頻度で見られた染色体重複領域は、1q21-44f、 2q21.2、 2q34、 3q11.2、 5p14.2、 5q13.2-14、 7p22、 7p14.2、 7q21.1、 7q22.3、 7q34、 8q12-24.3 および 17q23 に認めた。5% を超える頻度で見られた染色体増幅（2 倍体以上の染色体重複）は、1q25、 8q11 および 11q11 に見られ、さらに、14q32.11 にはこれまで報告のない新規の **homozygous deletion** を認めた。

染色体構造異常の程度は様々な臨床病理学的所見と有意な相関関係を認めた。すなわち、門脈浸襲陽性症例、肝内転移陽性症例および組織学的に低分化な肝細胞がんほど有意に多くの染色体構造異常を包含していることが明らかとなった。このことは、肝細胞がんが染色体構造異常の蓄積を伴った多段階発がん過程を辿るということを示唆している。さらに、浸潤能および転移能の獲得に関わる可能性のある染色体構造異常領域を多数同定できた。

階層的クラスター解析によって、肝細胞がんは染色体構造異常の組み合わせに基づくいくつかの群に分けられることがわかり、さらにこの群分けは、腫瘍の様々な臨床病理学的因子と有意な相関関係を示した。この結果は、肝細胞がんが多彩ではあるがある程度規則的な組み合わせを持った染色体構造異常の蓄積によって発生・進展するヘテロな分子病理学的背景を持つ腫瘍であることを示しており、また同時に、さまざまな遺伝子異常の組み合わせによって腫瘍細胞の生物学的特徴が決定付けられているということも示唆された。

多変量解析によって、17p13.3 の染色体欠損および 8q11 の染色体重複は、他の臨床病理学的因子とは独立した生命予後因子となりうることが明らかとなった。

新規染色体増幅領域 11q23 に含まれる新規がん遺伝子候補 **HCC-Amp1** (仮名)および新規染色体欠失領域 14q31 に含まれる新規がん抑制遺伝子候補 **HCC-HD1** (仮名) に関しては、現在分子生物学的にその機能解析を進めているので、それらについては現段階での結果を記した。これらに代表される新規がん関連遺伝子の単離を目標として、現在、精力的にゲノム構造解析および機能解析を行っているところである。

また、近年、遺伝子プロモーター領域の **CpG** アイランドにおける異常高メチル化の蓄積（メチル化形質）が発がん過程において重要な役割を果たしているとのエビデンスが確立されてきている。そこで本研究では、メチル化形質と染色体構造異常を同じ検体集団において解析することによって、肝細胞がんにおける両者の相関関係を明らかにすることを試みた。その結果、染色体構造異常の程度とメチル化形質の有無とは有意な相関関係はなく、両者は独立し、混在するゲノム不安定性形質であることが示唆された。しかしながら、メチル化圧力の強い群あるいは弱い群において特徴的に見られる染色体構造異常領域も複数存在していることが明らかになり、ゲノム上の局所的な **DNA** メチル化異常と染色体構造異常の間に何らかの相関関係がある可能性も示唆された。(2,288 文字)