

審査結果の要旨

氏名 高野 寛明

本研究は、早期発見時でも予後が悪いと言われるヒト肺腺癌、特に末梢小型肺腺癌について、発癌および進展に関与する遺伝子変化をとらえる事を目的とした研究である。本研究では、病理学的特徴をもとに、同一病巣内の“正常部”、非浸潤性領域（“辺縁部”）および浸潤性領域（“中心部”）の癌細胞を、マイクロダイセクション法により採取し、cDNAマイクロアレイ解析を行った。本研究によって、下記の結果を得ている。

1. マイクロダイセクションとマイクロアレイ解析を組み合わせた実験系の確立を行った。その結果、肺腺癌凍結組織切片より、約3000個の細胞から、マイクロアレイ解析に必要とされる品質($> 700\text{nt}$)の cRNA(complementary RNA)を得ることが可能となった。
2. 得られた7症例18セットのマイクロアレイデータ（正常部；5、辺縁部；7、中心部；6）について、階層的クラスタリング解析を行ったところ、症例ごとにまとまる傾向があった。これは、形態による差よりも個人差による発現変化の方が大きい事が示唆された。そのため、正規化処理を行い、形態に共通して変動する遺伝子（辺縁部；98遺伝子、中心部；133遺伝子）を抽出した。
3. “中心部”で発現亢進しているとして選び出した遺伝子プロファイルには、低酸素応答遺伝子である ceruloplasmin が含まれた。この分子に対し、免疫組織化学染色を行ったところ、末梢小型肺腺癌では、“辺縁部”より“中心部”によりつよいシグナルが得られ、病巣中心部では低酸素応答が生じている事

が示唆された。また、得られた遺伝子プロファイルが、“中心部”の癌細胞のものである事が確認された。

4. さらに、BAC ; bronchiolo-alveolar carcinomaにおいて ceruloplasminに免疫組織化学染色を行ったところ、末梢小型肺腺癌の“辺縁部”に比べてシグナルが有意に弱かった。したがって、悪性度の診断マーカーとして使用できる可能性が示唆された。
5. また、“辺縁部”で発現亢進しているとして選び出した遺伝子プロファイルには、Wnt シグナルのリガンドである WNT4 が含まれた。この分子について、*in situ* ハイブリダイゼーションを行った。その結果、“辺縁部”に有意に発現が観察された。また、Wnt シグナルの下流である β -catenin の免疫組織化学染色を行った結果、“辺縁部”において、細胞質への蓄積と核への移行が観察された。すなわち、末梢小型肺腺癌の辺縁部においては、Wnt シグナルが活性化している可能性が示唆された。

以上、本論文は、末梢小型肺腺癌において、新たに構築したアプローチを用いて、非浸潤性病変と浸潤性病変の癌細胞における遺伝子の変動を比較し、未だ不明であった発症と進展に関与する遺伝子変化について報告している。浸潤性増殖を示す病巣中心部では低酸素応答が、“辺縁部”では Wnt シグナルの活性化が示唆された。特に、Wnt シグナルは個体の発生、発癌と深い関係が示唆されており、末梢小型肺腺癌の辺縁部で活性化している事が示された事は、今後の発癌メカニズムの解明に重要であると考えられ、学位の授与に値すると考えられる。