

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 稲垣 恭和

主論文 1編

CREB3L4, *INTS3*, and *SNAPAP* are targets for the 1q21 amplicon frequently detected in hepatocellular carcinoma.

Caner Genetics and Cytogenetics 180: 30-36, 2008

審査結果の要旨

特定の染色体領域の DNA 増幅は悪性腫瘍の発生と進展に重要な役割をはたす。近年, SNP (single nucleotide polymorphism) 特異的オリゴヌクレオチドプローブが配置されたアレイの導入により, 高解像度に染色体の増幅、欠失を検出することが可能となった。

申請者は肝細胞癌(HCC)の発生, 進展に関与する遺伝子を同定することを目的に, 高密度オリゴヌクレオチドアレイを用い, HCC に生じた特定染色体領域の DNA コピー数の変化を解析し, 新規遺伝子増幅領域の検出とその標的遺伝子の同定をおこなった。19種のHCCの細胞株からDNAを抽出し, 全ゲノム領域をカバーする約12万個のSNP特異的プローブを搭載したGeneChip 100Kアレイ(Affymetrix社)を用いて, HCC細胞株に生じたDNAコピー数の変化を解析した。アレイの結果は染色体標本上でのFISH(fluorescence *in situ* hybridization)およびgenomic PCR法によるDNAコピー数の定量により検証した。増幅領域内の遺伝子について, 発現の程度を調べるためmRNAをreal time PCR法を用い定量した。アレイ解析でSNU368細胞において約700Kbにわたって1q21領域が増幅していることがわかった。この結果を確認するために, 増幅領域内に存在するBAC(bacterial artificial chromosome)をプローブとして用いてSNU368細胞の染色体標本上でFISHをおこなうと, 高レベルの増幅を示すHSR(homogeneously staining region)をみとめた。また増幅領域内に存在するSTS marker(RH12271)のDNAコピー数を, genomic PCR法を用いて19細胞株において調べると, SNU368細胞において増幅していた。36例のHCC臨床検体においても同様に, RH12271領域のコピー数を調べたところ, 36例中32例(89%)と高頻度に増幅していた。1q21増幅領域における標的遺伝子を同定するために, 領域内の26の遺伝子の発現の程度を19の細胞株において定量したところ, 5つの遺伝子がSNU368細胞において発現が亢進していた。また18例のHCC臨床検体の癌部と非癌部におけるこれら5つの遺伝子の発現の程度を定量したところ, *CREB3L4*, *INTS3*, *SNAPAP*が非腫瘍部と比較し腫瘍部において有意差をもって発現が亢進していた。これらの結果から*CREB3L4*, *INTS3*, *SNAPAP*が1q21増幅領域の標的遺伝子であり, その活性化がHCCの発育, 進展に関わっている可能性が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが, HCCにおける新規遺伝子増幅領域を検出し, その標的遺伝子候補を同定した点で, 医学上価値ある研究と認める。

平成25年12月19日

審査委員 教授 八木田 和 弘 ㊞

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 大 辻 英 吾 ㊞