

## 論文の内容の要旨

氏名：浅川 剛 志

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：舌扁平上皮癌における染色体 3p 領域の遺伝子異常

（背景）舌扁平上皮癌を含む頭頸部扁平上皮癌では、染色体 3p 領域に片側対立遺伝子欠失(LOH)が高頻度に観察される。これらの癌では、染色体 3p 領域に存在するがん抑制遺伝子の関与が予想されている。しかし舌扁平上皮癌については、これら頭頸部扁平上皮癌の一部として解析されており、舌癌における染色体 3p 領域の正確な欠失頻度については不明である。そこで本研究では、舌扁平上皮癌を対象を絞り、染色体 3p の LOH を検討した。また染色体 3p 領域の中でも *von Hippel-Lindau (VHL)* がん抑制遺伝子は、複数の癌で高頻度に LOH が観察されている。しかし頭頸部扁平上皮癌では欠失の報告はない。そこで本研究では、舌扁平上皮癌を対象に、*VHL* 遺伝子の LOH についても再検討した。ヘテロ型頻度の高い、新たな遺伝子内マーカーを用いて検討した。加えて *VHL* 遺伝子の変異についても解析を行った。

（方法）舌扁平上皮癌 28 例を対象として、癌部と非癌部組織から DNA を抽出した。LOH とマイクロサテライト不安定性については、染色体 3p とそれ以外に位置するマイクロサテライトを蛍光標識プライマーで PCR 増幅し、Genetic Analyzer によるフラグメント解析で決定した。*VHL* 遺伝子の LOH は、日本人で最もヘテロ型頻度の高い *VHL* 遺伝子内一塩基多型を用い、蛍光標識ジデオキシヌクレオチドによる一塩基伸長反応 (SNaPshot) の定量解析で決定した。*VHL* 遺伝子の変異については、3つの *VHL* 遺伝子のエクソン及びその周囲を PCR で増幅し、直接塩基配列決定し検討した。スプライシング異常を示す mRNA については、cDNA 合成後、定量を SYBR green real-time PCR で、定性を PCR 後アガロースゲル電気泳動、および直接塩基配列決定で解析した。点突然変異と LOH が同一対立遺伝子におこっているかは、上記 *VHL* 遺伝子の LOH と同様の方法で検討した。

（結果と考察）舌扁平上皮癌で、染色体 3p 領域 6カ所、その他 5カ所について LOH の同時解析を行い、deletion map を明らかにした。*VHL* 遺伝子の LOH は 45.5% であり、その他 3p 領域では 4カ所が 40%~50% と高頻度であった。3p 以外では 0-25% と低く、明らかに 3p で広い範囲に欠失が高頻度におこっていることが示された。しかも 3p の複数カ所が同時欠失している舌癌が多く観察されることも明らかとなった。*VHL* 遺伝子の突然変異は認めなかったが、片側対立遺伝子欠失だけでも癌の進展に関与する報告がある。舌癌でも *VHL* 遺伝子の LOH の関与、また染色体 3p の広範囲での同時欠失が、癌の発生・進展に関与する可能性が示された。また舌癌の 1 例に、*VHL* 遺伝子スプライス部位の生殖細胞系列点突然変異 (IVS1+5G>C) を見いだした。この症例ではイントロン 1 の配列が mRNA に検出され、イントロン 5 番目の点突然変異がスプライシング異常をおこすことをはじめて証明した。この症例の癌部では点突然変異アレルが欠失しており、この舌癌は *VHL* 病関連腫瘍とはいえないことが示された。また同様の変異で *VHL* 病発症例が報告されているが、この症例は 62 歳であるが発症していない。未発症キャリアの存在も示し得たと思われる。