

学位授与番号	甲第 1709 号
学位授与年月日	平成 17 年 9 月 30 日
氏 名	川口 和紀
学位論文題目	Differential gene alteration among hepatoma cell lines demonstrated by cDNA microarray-based comparative genomic hybridization (肝癌培養細胞株における cDNA マイクロアレイ法を用いたゲノム異常解析)
論文審査委員	主 査 教 授 中沼 安二 副 査 教 授 中尾 眞二 澤武 紀雄

内容の要旨及び審査の結果の要旨

癌化のメカニズムとして遺伝子発現異常に加えて、ゲノム構造異常も極めて重要な要因と考えられる。またヒト肝細胞癌においてアルファ・フェトプロテイン(AFP)は臨床的に重要な腫瘍マーカーの一つであり、DNA マイクロアレイ法を用いて AFP 産生肝癌細胞株と非産生株では遺伝子発現レベルにおいて異なるクラスターを形成することが既に報告されている。今回、cDNA マイクロアレイを用いてゲノム構造の異常検出系を確立し、遺伝子発現の変化も同定し、肝癌培養細胞株における AFP 産生と非産生の関連性を検討した。

まず陽性コントロール細胞株 3 種類を用いて cDNA マイクロアレイの信頼性を確認した。続いて 5 種類の AFP 産生肝癌細胞株、2 種類の AFP 非産生肝癌細胞株を用いてゲノム増幅、欠失の認められる遺伝子群を特定した。HBV ゲノムの組み込まれている細胞株ではこのスポットでの増幅が認められ、HepG2 ではアポトーシス関連遺伝子の増幅が目立ち、PLC/PRF/5 ではサイトカイン関連遺伝子の異常が多く認められた。ゲノム異常と実際の発現異常の関連性を検討すると、ゲノム異常を示す遺伝子のおよそ 40% で発現異常が認められた。これらの結果はサザンブロッティング法でも確認された。続いて各肝癌細胞株間におけるゲノム異常と発現異常との関係をクラスター解析で評価した。ゲノムの解析では 1,080 個全ての cDNA を利用した場合に AFP 産生株と非産生株の間でクラスター分けすることは出来ないが、解析ソフトウェアを用いて 40 個の AFP 産生株優位の遺伝子と 17 個の非産生株優位の遺伝子を特定することができた。これらの 57 個の遺伝子の中で遺伝子発現のマイクロアレイの結果を用いると一部の細胞株を除き AFP 産生株と非産生株とにクラスター分けすることが可能であった。これらの所見は、肝癌細胞株において AFP 産生の有無は包括的な遺伝子発現変化の差異を反映し、その前段階としてゲノム構造異常も関連しているものと考えられた。

以上、本研究は肝癌細胞株を用い、新しいゲノム構造異常の同定と遺伝子発現異常との関連性を検討することを可能にした労作であり、学位に値すると評価された。