

論文要旨等報告書

氏名	片瀬 直樹
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 3 8 2 1 号
学位授与の日付	平成 2 1 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	Deletion at Dickkopf(Dkk)-3 Locus (11P15.2) Is Related With Lower Lymph Node Metastasis and Better Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas(頭頸部扁平上皮癌におけるDickkopf(Dkk)-3遺伝子のヘテロ接合性消失に関する研究)
論文審査委員	教授 佐々木 朗 准教授 久保田 聡 教授 長塚 仁

学位論文内容の要旨

頭頸部扁平上皮癌は世界的にも発生頻度が高い悪性腫瘍である。近年、その治療においては、従来の手術療法に加え、化学療法、放射線治療の発展により局所制御は改善されてきた。しかし、リンパ節転移や遠隔転移を来した場合には治療が困難であり、全体的な生存率は依然として良好ではない。そのため、治療成績の向上と新規の治療法、予後予測因子の開発が求められている。

近年の分子生物学的手法を用いた研究により、ヒトの悪性腫瘍における癌遺伝子(oncogene)の増幅や癌抑制遺伝子(tumor suppressor gene : TSG)の機能低下が報告されつつある。その中でも、癌の治療・予後予測のターゲットとなりうる癌抑制遺伝子の候補としてDickkopf (Dkk) が注目されている。Dkk はDkk-1~4 から成るファミリーを形成し、発生における形態形成、細胞の癌化に重要な役割を果たすWnt シグナルの抑制因子として機能する分子である。肺癌や胃癌・大腸癌などの種々の癌において、Dkk 遺伝子ファミリー、特にDkk-3 の機能低下が報告されているが、頭頸部扁平上皮癌における同遺伝子の関与については不明である。

そこで本研究では、癌抑制遺伝子を検出する手法であるヘテロ接合性消失 (loss of heterozygosity : LOH) 解析により、頭頸部扁平上皮癌におけるDkk-3 遺伝子のLOHの状態を検索するとともに、各種の臨床データとの相関を解析、同遺伝子の癌発生・進展との関与について検討した。

岡山大学腫瘍バンク(清水憲二教授)で取り扱った頭頸部扁平上皮癌患者の新鮮凍結組織材料50症例を使用し、正常部と腫瘍部のペアサンプルからゲノムDNAを抽出した。Dkk-3 遺伝子を含む領域を認識する特異的マイクロサテライトマーカーを2種類デザインし、PCRにより増幅した。PCR産物をアガロースゲル電気泳動して遺伝子の増幅を確認後、8%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、銀染色によりバンドを可視化してLOHを判定した。

正常部のバンドと比較して、腫瘍部のバンドが50%以上減弱している症例をLOHと判定した。Dkk-3 のLOHの状態と、年齢・性別・飲酒、喫煙の有無・TNM stage・癌の既往の有無・再発の有

無を含む臨床データとの相関を統計処理により解析した。

検索した 50 症例のうち 44 症例が informative であり、高頻度に LOH が検出された (25/44 : 57%)。臨床データとの相関では、LOH の状態とリンパ節転移の有無の間に逆相関が認められ、Dkk-3LOH(+)群はリンパ節転移の頻度が有意に少なかった ($p=0.01$)。生存分析に関しては、Dkk-3LOH(+)群は Dkk-3LOH(-)群に比較して無疾患生存率 (Disease Free Survival : DFS) が長い傾向を示し ($p=0.57$)、期間生存率 (Overall Survival : OS) が有意に長かった ($P=0.05$)。また、Cox 比例ハザードモデル解析により、Dkk-3LOH(+)は、OS に対する独立した予後予測因子であることが示された。

Dkk-3 の LOH が高頻度に検出されたことから、同遺伝子が頭頸部扁平上皮癌においても、癌抑制遺伝子として腫瘍発生と進展に関与している可能性が示唆された。しかしながら、臨床データとの相関においては「Dkk-3LOH(+)群は LOH(-)群に比較し、リンパ節転移が少なく期間生存率が長い」という、これまでの報告とは相反する結果が得られた。

本結果から、以下の 2 つの可能性が考えられた。

1. Dkk-3 遺伝子にリンパ節転移を促進するという、オンコジェニックな機能を有している可能性がある。
2. Dkk-3 遺伝子の近傍にリンパ節転移に有利に機能する未知の遺伝子が存在する可能性がある。

本結果からは、Dkk-3 遺伝子は頭頸部扁平上皮癌の腫瘍発生・進展への関与が示唆されるとともに、Dkk-3 の LOH の状態は予後予測因子として利用できる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

癌の発生においては、癌抑制遺伝子の機能低下が癌の発生に重要であると考えられている。近年、癌の治療のターゲットとなりうる癌抑制遺伝子候補としてDkk-3が注目されている。Dkk-3はWntシグナルの抑制因子として機能する分子であるが、肺癌や胃癌、大腸癌などで、機能が低下していることが報告されている。しかし、頭頸部扁平上皮癌における同遺伝子の関与については不明である。

本研究では癌抑制遺伝子の不活性化を検出するLoss of Heterozygosity(以下LOH)解析により、頭頸部扁平上皮癌におけるDkk-3の遺伝子の欠失の状態を検索し、同遺伝子の腫瘍発生への関連を検討した。また、LOHの状態と臨床データとの相関を解析した。

その結果、高頻度に(57%)Dkk-3のLOHが検出されたことから、同遺伝子が頭頸部扁平上皮癌においても、癌抑制遺伝子として機能している可能性が示唆された。また、興味深いことに、臨床データとの相関では「Dkk-3LOH(+)群は有意にリンパ節転移が少なく、期間生存率が長い」という、これまでの報告とは符合しない結果が得られたが、このことに関して以下の2つの仮説が提示された。

1. Dkk-3遺伝子がリンパ節転移を促進する未知の機能を有している可能性がある。
2. Dkk-3遺伝子の近傍にリンパ節転移に関わる未知の遺伝子が存在する可能性がある。

以上のことから、Dkk-3遺伝子は頭頸部扁平上皮癌の腫瘍発生・進展に関与する可能性が示唆された。

これらの知見は、頭頸部扁平上皮癌発生・進展のメカニズム解明の一端を担う基礎研究として価値の高い研究業績である。よって博士(歯学)の学位論文の価値に足ることを認めた。