

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 浅井 孝夫
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第612号
学位授与の日付 平成26年9月22日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 High frequency of *TP53* but not *K-ras* gene mutations in Bolivian patients with gallbladder cancer
(ボリビア胆嚢がん患者における *TP53* 遺伝子および *K-ras* 遺伝子の変異頻度)

論文審査委員 主査 教授 若井 俊文
副査 教授 西條 康夫
副査 教授 中村 和利

博士論文の要旨

【背景と目的】胆嚢がんは初期症状に乏しく早期診断が難しいことから、患者の5年生存率が低く予後が悪い悪性腫瘍である。胆嚢がんの発生率は東ヨーロッパや南米アンデス山脈西側などの特定の地域や民族において高く、地理的・民族的な多様性を示すことが知られている。この多様性には遺伝要因が関与すると考えられているが、世界有数の発生率が報告されているボリビアにおいて、胆嚢がんの遺伝要因に関する報告はこれまでない。また申請者らは、チリで胆嚢がんの危険因子とされる赤唐辛子からアフラトキシンを検出したことに加え、ボリビアの赤唐辛子からもアフラトキシンを検出している。これらのことは、チリとボリビアで共通する因子が胆嚢がん発生に関与している可能性を示す。そこで本研究は、ボリビア胆嚢がん患者における *TP53* 遺伝子および *K-ras* 遺伝子の変異頻度を解明し、他の胆嚢がん多発国（日本、チリ、ハンガリー）における報告と比較することを目的とした。

【対象と方法】ボリビア・日本消化器センター（ラパス、ボリビア）で胆嚢がんと診断され胆嚢摘出術を受けた患者50例を対象とし、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから microdissection 法によりがん部特異的にDNAを抽出した。抽出したDNAをもとに、*TP53* 遺伝子の exon 5~8 および *K-ras* 遺伝子の codon 12, 13, 61 の塩基配列を direct sequencing 法で検索した。得られた結果はカイ二乗検定あるいはフィッシャーの直接確率検定を用いて他の胆嚢がん多発国と比較し、 $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。

【結果】対象とした50例のうち36例で遺伝子の解析に成功し、*TP53* 遺伝子の変異は50% (18例)、*K-ras* 遺伝子の変異は2.8% (1例) で認められた。*TP53* 遺伝子の変異箇所の合計は20か所 (17例が1か所ずつ、1例が3か所) で、そのうち12か所 (60%) が transition (ピリミジン塩基同士あるいはプリン塩基同士の置換) 型の変異であった。この頻度はチリでの報告 (100%) に比べ有意に低かった ($P < 0.05$)。また CpG サイトでの transition が3か所 (15%) で認められ、これらはいずれも *TP53* 遺伝子変異の hot spot 領域に該当していた。さらに G:C to T:A transversion (ピリミジン塩基とプリン塩基の置換) が1か所 (5%) で認められた。一方、*K-ras* 遺伝子で認められた1例の変異は codon 13 で生じていた。

【考察】*TP53* 遺伝子の変異様式 (スペクトル) は発癌機構と相関して特定の様式を表現することが知られている。すなわち、G:C to T:A transversion は、外因性発癌物質の関与を示唆するものであり、ボリビア、日本の症例で認められた。一方、CpG transition は内因性発癌過程の関与を示唆するものであり、ボリビア、チリ、ハンガリーの症例で認められた。このようにボリビア症例の変異様式は、特定の他国症例とすべてが一致するものではなく、固有の特色を示した。地理的に近接するボリビアとチリの症例の比較では、transition 型の割合に有意な差が見られたほか、チリ症例では認められなかった G:C to T:A transversion がボリビア症例では認められるなどの相違が見られた。両国の赤唐辛子から検出された発癌物質アフラトキシンと胆嚢がん発生との関連性に着目したが、両国の *TP53* 遺伝子変異様式が異なっていたことは、発癌物質の感受性において両国間に差が存在している可能性を示唆している。一方、*K-ras* 遺伝子変異は膵胆管合流異常症を併発した胆嚢がんで高頻度に見られるが、ボリビア症例に本症は含まれておらず、本研究の結果は他の胆嚢がん多発国におけるこれまでの報告と一致している。また、このことはボリビアにおける胆嚢がんが *K-ras* 非依存的経路により発生することを示している。

【結論】ボリビア胆嚢がん患者における *TP53* 遺伝子の変異頻度は他の胆嚢がん多発国 (日本、チリ、ハンガリー) と同程度であったが、transition 型の割合、G:C to T:A transversion の割合、CpG transition の割合において特色が認められた。これらからボリビアにおける胆嚢がん発生には外因的要因と内因的要因の双方が関与していることが示唆された。さらに、チリ、ボリビアの両国では赤唐辛子のアフラトキシン汚染が報告されているが、その胆嚢がん発生への影響は両国で異なっている可能性が考えられる。

審査結果の要旨

本研究は、胆嚢がんの発生率が最も高い国の一つであるボリビアの胆嚢がん患者における *TP53* 遺伝子および *K-ras* 遺伝子の変異頻度の特徴を明らかにすることを目的とした。1994 年から 2010 年にボリビア・日本消化器センターで胆嚢摘出術を受けた胆嚢がん患者 36 例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから microdissection 法によりがん部特異的に DNA を抽出し、*TP53* 遺伝子の exon 5~8 および *K-ras* 遺伝子の codon 12, 13, 61 の塩基配列を direct sequencing 法で検索した。*TP53* 遺伝子の変異は 18 例 (50%)、*K-ras* 遺伝子の変異は 1 例 (2.8%) で認められた。*TP53* 遺伝子の変異箇所のうち transition 型の変異は 12 か所 (60%)、CpG サイトでの transition (内因性発癌過程の関与を示唆) は 3 か所 (15%)、G:C to T:A transversion (外因性発癌物質の関与を示唆) は 1 か所 (5%) で認められた。これらの頻度割合は他の胆嚢がん多発国 (日本、ハンガリー、チリ) と異なっていた。ボリビアにおける胆嚢がん発生には外因的要因と内因的要因の双方が関与し、さらに発癌物質の感受性においても他の多発国と異なる可能性がある。

胆嚢がん発生のメカニズムを国際間比較による *TP53* 遺伝子変異および *K-ras* 遺伝子変異の結果に基づいて論じ、Asian Pac J Cancer Prev に受理されており、学位論文として価値のある研究成果であると判断した。