

氏名(生年月日)	ウス 碓 井 健 文
本 籍	
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 授 与 の 番 号	乙第 2441 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 19 年 7 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当 (博士の学位論文提出者)
学 位 論 文 題 目	Expression status of RUNX1/AML1 in normal gastric epithelium and its mutational analysis in microdissected gastric cancer cells (正常胃粘膜上皮と胃癌組織での RUNX1/AML1 の発現と胃癌細胞におけるその遺伝子変異の解析)
主 論 文 公 表 誌	International Journal of Oncology 第 29 卷 第 4 号 779-784 頁 2007 年
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 亀岡 信悟 (副査) 教授 江崎 太一, 扇内 秀樹

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

RUNX ファミリー遺伝子のうち, RUNX1/AML1 は造血幹細胞から各血球系への分化を制御する転写因子で, その遺伝子変異による機能欠失が白血病の原因となる。一方, RUNX3 は胃粘膜上皮の分化・アポトーシスを制御する TGF- β 経路での重要な転写因子で, その機能低下が癌の発生や進展に関与するといわれる。RUNX1 は胃癌の 50% で loss of heterozygosity (LOH) を認めるとされ, 白血病の癌抑制遺伝子であることから, 胃癌でも RUNX3 と同様に癌抑制遺伝子となる可能性がある。そこで本研究では, RUNX1 の胃粘膜上皮の分化・発癌への関わりを検討した。

〔方法〕

胃粘膜上皮での RUNX の発現部位を明らかにするため, laser captured microdissection (LCM) により腺窩上皮, 腺狭部/頸部, 胃底腺領域の細胞塊をそれぞれ採取し, RT-PCR で mRNA の発現を解析した。機能については, *in vitro* で胃癌細胞株に RUNX1 をプラスミドベクターを用いて導入し, 細胞増殖抑制活性を colony formation assay で検討した。次いで胃癌との関わりをみるため, 胃癌細胞株 11 種と胃癌切除標本 29 検体を用い, RT-PCR で RUNX1 mRNA の発現を解析した。さらに, 胃癌切除標本 44 検体から LCM により間質細胞を含まない胃癌細胞塊を採取し, 微量の DNA を著者らが開発した PRSG 法により増幅し, RUNX1 の遺伝子変異を解析した。

〔結果〕

胃粘膜上皮では, RUNX1, RUNX3 とも表層の腺窩上皮でのみ mRNA の発現がみられた。Colony formation assay では, RUNX1 導入細胞の colony 形成は control に比べて有意に抑制されており, RUNX1 に細胞増殖抑制活性を認めた。しかし, 胃癌細胞株と胃癌切除標本では, 発現に強弱はあったが全例で RUNX1 の発現がみられた。さらに遺伝子変異の解析では, 1 例にアミノ酸変異を生じない silent mutation を認めるのみであった。

〔考察〕

RUNX1 は胃粘膜上皮での発現パターンとその細胞増殖抑制活性が RUNX3 と類似しており, 胃粘膜上皮表層の分化・アポトーシスを制御する機能を持つと考えられる。しかし, 胃癌細胞株と胃癌切除標本では, RUNX3 と異なり RUNX1 は全例で発現し, 遺伝子変異も認めなかった。この結果から, RUNX1 は癌抑制遺伝子とはならず, 大部分の胃癌の発生には関与しないと考えられた。RUNX1 と RUNX3 は構造, 発現部位, 機能などは類似するが, この癌抑制遺伝子機能を持たない理由として, 両遺伝子間で転写のターゲット遺伝子が異なることが示唆され, 今後の解明が期待される。

〔結語〕

RUNX1 は胃粘膜上皮の分化・アポトーシスを制御するが、大部分の胃癌発生には関与しないと考えられ、今後は、その点に関する *RUNX1* と *RUNX3* の違いを解明する必要がある。

論文審査の要旨

〔目的〕*RUNX1* 遺伝子は造血幹細胞から各血球系への分化を制御する転写因子であるが、一方同じ *RUNX* ファミリー遺伝子である *RUNX3* 遺伝子は胃粘膜上皮の分化・アポトーシス制御経路での転写因子で癌の発生や進展に関与するといわれている。*RUNX1* は胃癌の 50% で loss of heterozygosity (LOH) を認めることから、著者は胃癌における癌抑制遺伝子の可能性を推論し、検討した。

〔方法〕胃粘膜上皮での *RUNX* 発現部位につき検討した。これには laser captured microdissection (LCM) を用いた。機能については *in vitro* で胃癌細胞株に *RUNX1* をプラスミドベクターを用いて導入し、細胞増殖抑制活性を colony formation assay で検討した。胃癌との関わりをみるため、胃癌細胞株および胃癌切除標本を用い、*RUNX1* の mRNA 発現を解析した。

〔結果と考察〕胃粘膜上皮では *RUNX1*, *RUNX3* とも表層の腺窩上皮のみで mRNA の発現が見られた。*RUNX1* 導入細胞の colony 形成は有意に抑制されており、*RUNX1* に細胞増殖抑制活性を認めた。しかし、胃癌細胞株および胃癌切除標本では、全例で *RUNX1* の発現がみられた。この結果から、*RUNX1* は癌抑制遺伝子とはならず大部分の胃癌発生には関与しないと考えられた。*RUNX1* と *RUNX3* は構造、発現部位、機能などは類似するが転写のターゲットが異なることが示唆された。

以上、本論文は基礎的かつ臨床的にも価値ある論文と認める。