

原 著

BRCA1, BRCA2 遺伝子に異常を認めない家族性上皮性 卵巣癌症例における Loss of heterozygosity (LOH) 解析による 遺伝子不安定性に関する研究

新潟大学医学部産科婦人科学教室(主任：田中憲一教授)

常 木 郁 之 輔

Genomic Instability Study on the Japanese Familial Ovarian Cancer
without Germline Mutation of *BRCA1* or *BRCA2*
by Loss of Heterozygosity Analysis

Ikunosuke TSUNEKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine, Niigata

(Director : Prof. Kenichi Tanaka)

概要 家族性卵巣癌63家系の遺伝子解析にて、*BRCA1* 遺伝子に突然変異の認められた家系は39家系、*BRCA2* 遺伝子に突然変異の認められた家系は5家系であり、残りの19家系においては、*BRCA1*, 2 両遺伝子の突然変異は検出できなかった。この19家系の家族性卵巣癌患者40例と新潟県腫瘍登録調査に登録された卵巣癌患者1,299例(コントロール群)について臨床、病理組織学的に検討を加えたところ、平均発症年齢は家族性群で45.7歳とコントロール群54.2歳に比較して有意に若年であった($p=0.0001$)。全染色体より約20cMの間隔で160のマイクロサテライトマーカーを設定し、家族性卵巣癌患者組織より抽出したDNAサンプルを用いて Loss of Heterozygosity (LOH) 解析を実施したところ、症例数の多い漿液性腺癌15例で高頻度の LOH が検出された領域は 5p13-q31, 6q21-27, 8pter-p12, 8q24-qter, 9q32-34, 13q12-34, 17p13-q25の7染色体領域であった。上記7領域について散発性症例をコントロールとして家族性症例と LOH 頻度を比較したところ、5p13-q31, 8pter-p12, 8q24-qter, 13q12-34, 17p12-q24の5染色体領域では家族性症例にのみ、高頻度の LOH が観察され、家族性卵巣癌発症に関連する遺伝子領域の存在する可能性が明らかにされた。

Abstract Objective and Methods : In order to explore whether novel genes have been contributing to carcinogenesis of familial ovarian cancer in which no germline mutation of *BRCA1* nor *BRCA2* is found in the form of a tumor suppressor gene, we have attempted to perform loss of heterozygosity (LOH) analysis with 160 microsatellite markers. The average intermarker distance was approximately 20cM.

Results : We ascertained and performed direct sequencing of available in all 63 families for mutational analysis in *BRCA1* and *BRCA2*. Among 63 families, no germline mutation of *BRCA1* or *BRCA2* gene was detected in 40 affected patients in 19 families. The mean age at diagnosis of patients with tumors with no mutation, 45.7 years, was significantly younger than in the control cases, 54.2 years ($p=0.0001$). It was observed that the frequency of LOH was more than 50% only in tumor tissues from patients with no mutation but not in those with sporadic ovarian cancer in 5 regions ; 5p13-q31, 8pter-p12, 8q24-qter, 13q12-34, and 17p13-q25.

Conclusions : These results suggest the possibility that novel susceptibility genes for familial ovarian cancer exist in one of the 4 regions.

Key words : Familial ovarian cancer · *BRCA1* · *BRCA2* · Loss of heterozygosity

緒 言

上皮性卵巣癌は近年わが国において増加しつつあり、またその死亡率の高いことより、今後克服すべき悪性腫瘍のひとつである。さらに同疾患の特徴のひとつとして、大腸癌、あるいは乳癌と同様に家族内発生が挙げられ、全体の上皮性卵巣癌の約5~10%が遺伝的素因により癌化していると考えられている¹⁾。米国における疫学調査の結果等より、卵巣癌発症の危険因子として家族内の卵巣癌患者の存在が挙げられ、第2度近親者内に卵巣癌患者を有する女性は卵巣癌発症のリスクが2から4倍増加すると報告されている²⁾³⁾。家族性乳癌の原因遺伝子として分離された *BRCA1*, *BRCA2* の両遺伝子は家族性卵巣癌の発生にも関与するとされ⁴⁾⁵⁾、わが国における解析結果によると、卵巣癌と乳癌を同一家系内に含む乳癌卵巣癌家系の約70%、乳癌を含まない卵巣癌家系の約25%に *BRCA1* の遺伝子異常が認められた⁶⁾。一方、*BRCA2* の異常を認めたのはすべての家族性卵巣癌の10%以下であったと報告されている⁷⁾。しかし、欧米の報告およびわが国における報告両者において、家族性卵巣癌の約半数の症例で *BRCA1*, *BRCA2* 両遺伝子の異常が認められず^{7)~9)}、これらの家系における原因遺伝子の究明が待たれている。

ヘテロ接合性の消失 (Loss of Heterozygosity : LOH) とは腫瘍細胞においてある遺伝子領域の対立遺伝子の片方が消失する現象であり、癌抑制遺伝子の胚細胞性突然変異に加えて対側対立遺伝子の欠失が認められた場合、癌抑制遺伝子の機能消失が起こり癌化にいたるとされている。従来、散発性腫瘍あるいは家族性腫瘍における癌抑制遺伝子の関与の有無、あるいはその座位を明らかにする目的で LOH が検討されてきた。同一組織型を示す腫瘍のうち、ある部分で LOH が症例の35%以上で共通して観察されれば、その部分に癌抑制遺伝子が存在する可能性があると考えられている。現在までに第17番染色体短腕17p には p53、長腕17q には NF1 と *BRCA1*、22番染色体長腕22q には NF2、13番染色体長腕13q には RB と *BRCA2*、5番染色体長腕5q には APC などの癌抑制遺伝子の存在が知られている。これまでの報告にて卵巣癌で高頻度

に LOH が検出される染色体部位は、17p, 17q, 22q, 18q, 6q, 13q, Xp, 5q, 6p, 19p 等多数の部位に及んでいるが、LOH が高頻度な部位すべてに癌抑制遺伝子が存在するのではなく、癌化後の2次的現象としての遺伝子不安定性 (genomic instability) により LOH が起こっている可能性もあり、慎重な検討が必要となる。

以上、本研究においては *BRCA1*, 2 に突然変異を認めない家族性上皮性卵巣癌症例を対象として、共通遺伝子不安定性の検出に加え、家族性卵巣癌に関連する遺伝子領域の検出を目的として全染色体における LOH 解析を行った。

実験対象および方法

対象

家族歴の判定は、Piver, Narod et al.¹⁾¹⁰⁾ の基準に準じ、第2度近親者内に上皮性卵巣癌患者が2名以上存在する家系を家族性卵巣癌家系と定義し、このうち、同近親者内に乳癌患者が含まれる家系を家族性乳癌卵巣癌家系、乳癌患者を認めない家系を狭義の家族性卵巣癌家系とした。上皮性卵巣癌患者の家族歴、臨床所見は、全国主要施設のカルテ調査により行い、上記の定義に従って家族性卵巣癌家系を63家系集積した。散発性卵巣癌症例は、新潟大学医学部産科婦人科教室にて治療を行った上皮性卵巣癌 (漿液性腺癌) 患者のうち卵巣癌の家族歴を認めない25例を対象とした。検体集積に際しては当該施設の主治医より患者および家族に対して十分にインフォームドコンセントを行い、本人、家族の同意が得られたものを対象とした。

DNA 抽出

患者同意のもとに採血を行い、フェノール・クロロホルム法にて末梢血リンパ球より正常 DNA を抽出した。腫瘍 DNA は手術時摘出標本のホルマリン固定パラフィン包埋切片より正常 DNA と同様に抽出を行った。

BRCA1, *BRCA2* 遺伝子解析

全63家系の解析可能な患者正常 DNA を対象に、*BRCA1* および *BRCA2* 遺伝子のダイレクトシーケンスを行った。両遺伝子の全翻訳領域 (*BRCA1* : 23エクソン, *BRCA2* : 26エクソン) を

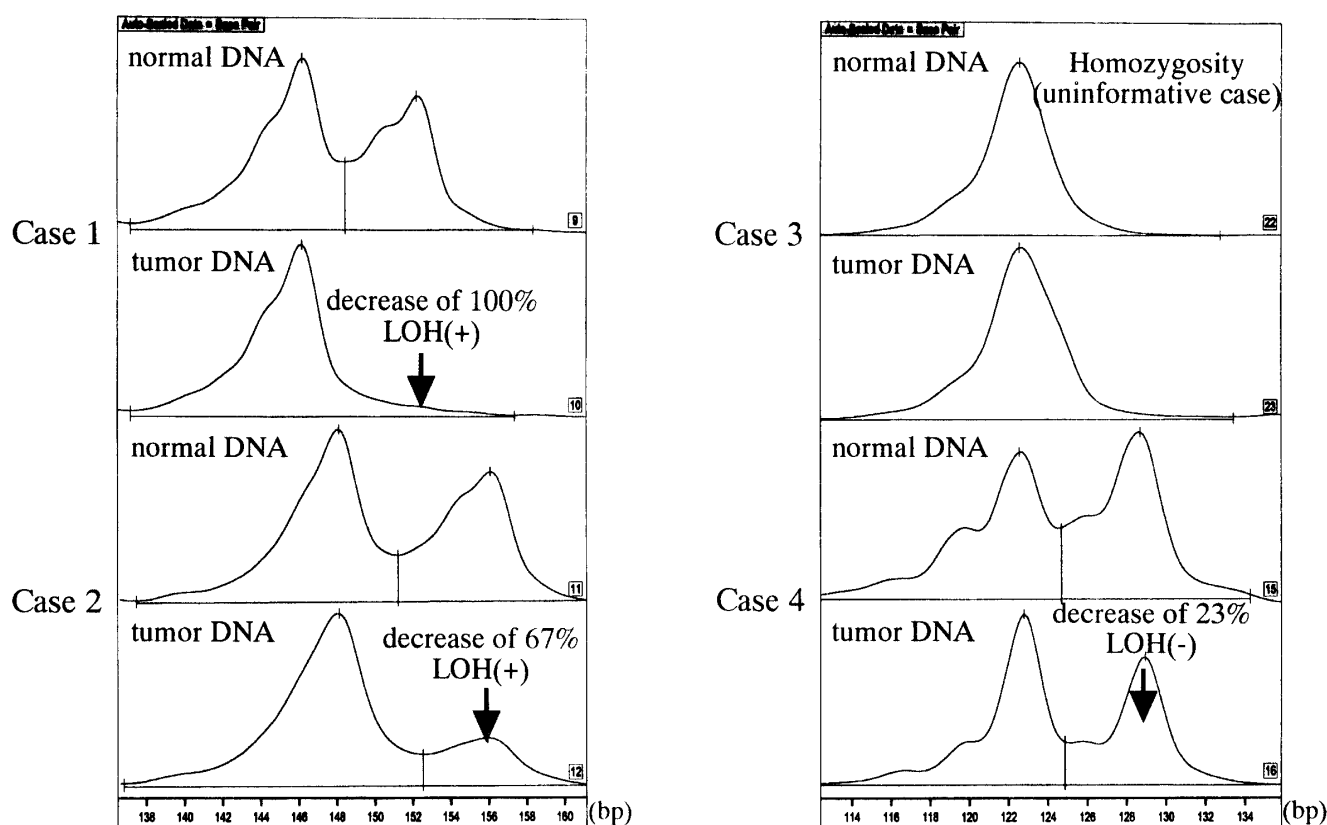


Fig. 1 LOH analysis with an autosequencer. The x-axis represents the length of microsatellite repeat polymorphisms. Case 1: The decrease of approximately 100% in the peak area in a tumor sample compared to normal DNA was determined as the LOH. Case 2; The decrease of 67% was determined as the LOH. Case 3; As both alleles at this locus were identical in normal DNA, this case was uninformative. Case 4; The decrease of 23% was not determined as the LOH.

網羅するように非蛍光標識プライマーを設定し、PCR(Polymerase chain reaction)法にて増幅を行った。このPCR産物をAutocycle sequencing kit(Amersham-Pharmacia Biotech, Japan)を用い、Cy5標識したプライマーでシークエンス反応を行った後、6%ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動を行った。電気泳動にはALF express オートシークエンサー(Amersham-Pharmacia Biotech, Japan)を使用した。

LOH 解析

LOHの判定は、マイクロサテライト多型により行った。全染色体上に約20cM 間隔に設定した160のマイクロサテライト領域を、25ngのゲノムDNAを鋳型にCy5標識プライマーを用いて、PCR法にて増幅を行った。そのPCR産物を、ALF expressを用いて6%ポリアクリルアミドゲル上で

電気泳動を行い、泳動データ解析にはFragment manager(Amersham-Pharmacia Biotech, Japan)を使用した。正常DNAにおいてピークを2カ所(heterozygosity)認める症例(informative case)において、腫瘍DNA由来の一方の対立遺伝子のピーク面積が、正常DNAに比し50%以上の減弱が認められた場合をLOHと判定した(Fig. 1)。

統計解析

有意差検定にはFisherの直接確率法、およびUnpaired t検定を用い、p-value<0.05を統計学的有意とした。

実験成績

患者解析

家系調査により家族性卵巣癌63家系、卵巣癌患者157名の集積が可能であった。63家系のうち、BRCA1遺伝子に突然変異の認められた家系は39

Table 1 Clinical and pathological characteristics of familial and sporadic ovarian cancer

	No. of cases (%)		p-value
	familial	Population controls	
Total	40	1,299	
Age (yr) Mean $\pm$ SD	45.7 $\pm$ 9.8	54.2 $\pm$ 13.5	0.0001
Histology			
Serous	15 (40.5)	524 (44.3)	NS
Endometrioid	5 (13.5)	157 (13.3)	NS
Mucinous	4 (10.8)	273 (23.1)	NS (0.053)
Clear cell	9 (24.3)	164 (13.9)	NS (0.066)
Others	4 (10.8)	66 (5.6)	NS
Unknown	3	115	
Stage			
I	9 (33.3)	553 (43.1)	NS
II	6 (22.2)	167 (13.0)	
III	9 (33.3)	434 (33.9)	
IV	3 (11.1)	128 (10.0)	
Unknown	13	17	

NS : not significant

家系, *BRCA2* 遺伝子に突然変異の認められた家系は5家系であり, 残りの19家系においては, *BRCA1, 2* 両遺伝子の突然変異は検出できなかった. 19家系中, 家系内に乳癌患者を含む家族性乳癌卵巣癌家系は2家系のみで, 残りの17家系は乳癌患者を含まない狭義の家族性卵巣癌家系であった. また, 家系内に卵巣癌患者を2名認める家系が17家系, 3名の家系が2家系であり, 1家系あたりの平均患者数は2.11であった.

次に, この19家系の家族性卵巣癌患者40例(家族性群)と新潟県腫瘍登録調査に登録された悪性卵巣腫瘍1,299例(散发性群)について臨床, 病理組織学的に検討を行った(Table 1). 平均発症年齢では, 家族性群で45.7歳と散发性群の54.2歳に比較して有意に若年発症であった($p=0.0001$). 病理組織分類では, 漿液性腺癌15例, 類内膜腺癌5例, 粘液性腺癌4例, 明細胞腺癌9例, その他4例(Brenner腫瘍1例, 境界悪性3例), 不明3例であり, 散发性群との比較では類内膜腺癌が少なく, 明細胞腺癌が多い傾向が認められたが, いずれも有意差は認めなかった. 診断時の臨床進行期をFIGO分類により検討すると, I期が少なく, II期が多い傾向にあったが, いずれも有意差は認めなかった.

LOH 解析

X染色体を含む全染色体に約20cM間隔で設定した160マイクロサテライトマーカーを用いて, LOH解析を実施した. その結果, 160マーカーのうち71マーカーにおいて, uninformative caseを除いた症例中30%以上の頻度でLOHが認められた. その中でも6q, 7p, 13q, 17p, 17q領域では検索したすべてのマーカーで30%以上のLOH頻度を認め, さらに50%以上の頻度でLOHが検出されたのは, D7S481(7p22-21: 10/18=55.6%), D9S154(9q32-33: 13/25=52.0%), D17S796(17p13-12: 13/25=52.0%), D17S799(17p12-11: 10/20=50.0%)の4マーカーであった(Table 2). 次いで, 症例を組織型別で分類し, 症例数の多い漿液性腺癌15例に関して解析した. informative 症例中30%以上の頻度でLOHが検出されたのは, 160マーカーのうち104マーカーであった. 50%以上のLOHを示した染色体領域は, 2q, 3p, 4q, 5p, 5q, 6q, 7p, 7q, 8p, 8q, 9q, 10p, 10q, 11q, 13q, 14q, 16p, 17p, 17q, 18q, 19q, 22qの22領域であった. 特に, 隣接したマーカーで連続して高頻度のLOHが検出された領域は5p13-q31, 6q21-27, 8pter-p12, 8q24-qter, 9q32-34, 13q12-34, 17p13-q25の7染色体領域であった(Table 3).

Table 2 Loss of heterozygosity in familial ovarian cancer at all chromosomes

chromosome 1			chromosome 7			chromosome 15		
marker	locus	frequency (No.) of LOH	marker	locus	frequency (No.) of LOH	marker	locus	frequency (No.) of LOH
D1S214	1p36	25.0% (4/16)	●● D7S481	7p22-21	55.6% (10/18)	● D15S1002	15q12-15	16.7% (3/18)
D1S228	1p36	20.0% (4/20)	● D7S2557	7p21-15	36.8% (7/19)	● D15S144	15q12-15	35.7% (5/14)
● D1S478	1p36-34	42.3% (11/26)	● D7S2564	7p15	34.8% (8/23)	● D15S1033	15q21	30.0% (6/20)
● D1S2657	1p35-34	31.8% (7/22)	● D7S691	7p13-q11	33.3% (6/18)	● D15S1041	15q23-26	39.3% (11/28)
D1S209	1p33-32	14.3% (3/21)	D7S634	7q11-21	17.4% (4/23)	● D15S127	15q23-26	31.0% (9/29)
D1S207	1p33-32	20.8% (5/24)	D7S2536	7q22-31	16.7% (3/18)	chromosome 16		
● D1S248	1p21	30.0% (6/20)	D7S684	7q34-35	17.6% (3/17)	D16S423	16p13	25.8% (8/31)
D1S484	1p13	27.3% (6/22)	● D7S498	7q35-36	33.3% (4/12)	D16S405	16p13	29.2% (7/24)
D1S422	1q31-32	23.8% (5/21)	chromosome 8			D16S3068	16p12-11	14.3% (3/21)
D1S249	1q32	29.2% (7/24)	● D8S277	8pter-23	44.4% (12/27)	D16S3067	16q21-22	17.4% (4/23)
D1S213	1q32-42	19.4% (6/31)	● D8S258	8p22	19.0% (4/21)	D16S516	16q24	27.8% (5/18)
● D1S2785	1q43-44	32.0% (8/25)	● D8S1752	8p22-12	40.0% (8/20)	D16S413	16q24	25.9% (7/27)
chromosome 2			D8S285	8q11-12	7.7% (2/26)	chromosome 17		
D2S162	2p24	13.6% (3/22)	D8S275	8q13-22	25.0% (3/12)	● D17S1845	17p13-12	46.2% (12/26)
D2S174	2p24-21	26.3% (5/19)	D8S266	8q24-ter	27.3% (6/22)	● D17S796	17p13-12	52.0% (13/25)
D2S2331	2p22-16	7.1% (1/14)	D8S558	8q24	29.2% (7/24)	● D17S799	17p12-11	50.0% (10/20)
D2S136	2p14-13	9.1% (2/22)	● D8S1836	8q24	40.0% (10/25)	● D17S1872	17q11-12	37.9% (11/29)
D2S139	2p12	15.4% (4/26)	chromosome 9			● D17S787	17q21-22	42.3% (11/26)
D2S110	2q14	25.0% (4/16)	● D9S277	9p24-22	30.0% (6/20)	● D17S789	17q23-24	30.4% (7/23)
● D2S111	2q24	40.0% (6/15)	● D9S1679	9p21-13	11.8% (2/17)	● D17S1352	17q24-25	43.5% (10/23)
● D2S117	2q32-33	33.3% (9/27)	● D9S153	9q13-22	31.6% (6/19)	● D17S937	17q24-25	38.1% (8/21)
● D2S159	2q33-37	31.8% (7/22)	● D9S1689	9q22	23.8% (5/21)	chromosome 18		
● D2S206	2q33-37	38.9% (7/18)	● D9S154	9q32-33	52.0% (13/25)	D18S452	18p11	16.0% (4/25)
● D2S125	2q37-ter	33.3% (7/21)	● D9S1795	9q34	38.5% (5/13)	D18S480	18p11	6.7% (1/15)
chromosome 3			● D9S66	9q34	42.3% (11/26)	D18S455	18q12-22	25.0% (4/16)
● D3S3611	3pter-24	42.3% (11/26)	chromosome 10			D18S55	18q22	29.2% (7/24)
D3S1286	3pter-24	25.8% (8/31)	● D10S1729	10p15	41.7% (5/12)	● D18S58	18q22-23	30.8% (8/26)
● D3S1283	3p24-22	36.0% (9/25)	D10S191	10p12	19.2% (5/26)	chromosome 19		
D3S1578	3p21	23.1% (6/26)	D10S1768	10p12-q11	21.1% (4/19)	D19S901	19p13	17.4% (4/23)
● D3S1284	3p12	45.5% (10/22)	D10S207	10q11-21	15.0% (3/20)	D19S932	19p13-q12	12.0% (3/25)
● D3S1271	3q12-13	30.0% (6/20)	D10S569	10q11-22	11.1% (2/18)	D19S412	19q13	24.0% (6/25)
D3S1292	3q21-25	19.0% (4/21)	D10S185	10q23-24	20.0% (5/25)	D19S891	19q13	27.3% (6/22)
D3S3694	3q22-24	18.2% (4/22)	D10S187	10q24-25	19.0% (4/21)	chromosome 20		
D3S1282	3q25-26	18.2% (4/22)	● D10S587	10q26	38.1% (8/21)	D20S116	20p13	14.3% (4/28)
D3S1580	3q27	17.4% (4/23)	chromosome 11			D20S188	20p12	18.2% (4/22)
D3S1311	3q27-ter	16.7% (3/18)	D11S932	11p15	22.2% (4/18)	D20S848	20p11-q12	9.1% (2/22)
chromosome 4			● D11S4154	11p14-12	31.6% (6/19)	D20S171	20p13	9.5% (2/21)
D4S1599	4p16	10.0% (2/20)	D11S903	11p11	21.1% (4/19)	chromosome 21		
D4S391	4p15-14	20.0% (5/25)	● D11S911	11q13-23	30.4% (7/23)	D21S1256	21q11-21	4.8% (1/21)
D4S1592	4q12	21.1% (4/19)	D11S927	11q22-23	5.6% (1/18)	D21S1258	21q21-22	12.5% (3/24)
● D4S1538	4q21	33.3% (6/18)	D11S934	11q23-24	13.3% (2/15)	D21S267	21q22	15.4% (2/13)
● D4S2938	4q28-32	45.0% (9/20)	D11S969	11q24-25	16.7% (2/12)	chromosome 22		
● D4S2934	4q28-32	31.3% (5/16)	chromosome 12			D22S420	22q11	23.8% (5/21)
D4S3046	4q28-32	25.0% (4/16)	D12S1695	12p13	5.6% (1/18)	D22S283	22q12-13	10.0% (2/20)
● D4S1522	4q34-35	47.4% (9/19)	D12S87	12p12-11	11.8% (2/17)	D22S282	22q13	29.2% (7/24)
chromosome 5			D12S83	12q13-14	7.1% (2/28)	chromosome X		
● D5S406	5p15-14	35.0% (7/20)	● D12S78	12q23	30.8% (8/26)	DXS1060	Xp22	20.0% (6/30)
D5S432	5p15-14	14.3% (3/21)	● D12S76	12q24	30.8% (8/26)	● DXS989	Xp22	32.1% (9/28)
● D5S477	5p14-13	30.4% (7/23)	● D12S367	12q24	30.0% (6/20)	DXS8090	Xp22-21	13.0% (3/23)
● D5S407	5p13-q12	32.1% (9/28)	chromosome 13			DXS1003	Xp11-23	27.6% (8/29)
● D5S644	5q14-15	21.4% (6/28)	● D13S175	13q11	30.0% (6/20)	DXS966	Xq12-21	12.5% (3/24)
● D5S2084	5q14-21	43.5% (10/23)	● D13S219	13q12-13	42.1% (8/19)	● DXS8089	Xq21-25	31.3% (5/16)
● D5S1983	5q31	31.6% (6/19)	● D13S152	13q21	34.8% (8/23)	DXS1001	Xq21-25	13.3% (2/15)
● D5S422	5q32-33	34.6% (9/26)	● D13S158	13q32-33	43.5% (10/23)	DXS8043	Xq26-27	20.0% (4/20)
● D5S498	5q35	44.4% (8/18)	● D13S1315	13q32-34	42.9% (12/28)			
chromosome 6			chromosome 14					
D6S344	6p25	22.2% (4/18)	D14S64	14q11-12	9.1% (2/22)			
● D6S422	6p23-22	43.8% (7/16)	D14S980	14q21-24	16.7% (3/18)			
D6S291	6p21-21	26.7% (4/15)	● D14S63	14q23	41.2% (7/17)			
D6S1714	6p21-11	10.0% (2/20)	D14S68	14q24-31	20.0% (5/25)			
● D6S275	6q16	35.3% (6/17)	D14S65	14q32	28.0% (7/25)			
● D6S287	6q21-23	40.0% (6/15)						
● D6S310	6q22-24	35.7% (10/28)						
● D6S441	6q25-27	38.1% (8/21)						
● D6S1719	6q27	38.5% (10/26)						

● : Locus at which frequency of LOH was more than 30%

●● : Locus at which frequency of LOH was more than 50%

以上より、さらに上記 7 領域に散発性上皮性卵巣癌症例(漿液性腺癌25症例)、および *BRCA1* 変異症例(漿液性腺癌20症例)をコントロールとして LOH 解析を行い、家族性上皮性卵巣癌症例と比較検討した(Table 4)。その結果、散発性症例と家族性症例を比較すると、5p13-q31, 8pter-p12, 8q24-

qter, 13q12-34, 17p12-q24の 5 染色体領域では、家族性症例にのみ高頻度の LOH が観察された。残りの 2 染色体領域中、1 領域(9q32-34)では検索した 3 マーカーのうち 2 マーカーにおいて家族性症例で高頻度の LOH が示された。残りの 6q21-27 領域では散発性症例においても高頻度の LOH を示し、

Table 3 Loss of heterozygosity in familial cases with serous adenocarcinoma

chromosome 1			chromosome 7			chromosome 15		
marker	locus	frequency (No.) of LOH	marker	locus	frequency (No.) of LOH	marker	locus	frequency (No.) of LOH
D1S214	1p36	25.0% (1/4)	●● D7S481	7p22-21	62.5% (5/8)	● D15S1002	15q12-15	20.0% (2/10)
● D1S228	1p36	14.3% (1/7)	● D7S2557	7p21-15	44.4% (4/9)	● D15S144	15q12-15	33.3% (2/6)
● D1S478	1p36-34	45.5% (5/11)	● D7S2564	7p15	40.0% (4/10)	● D15S1033	15q21	33.3% (2/6)
● D1S2657	1p35-34	44.4% (4/9)	● D7S691	7p13-q11	0.0% (0/5)	● D15S1041	15q23-26	45.5% (5/11)
● D1S209	1p33-32	0.0% (0/10)	● D7S634	7q11-21	18.2% (2/11)	● D15S127	15q23-26	46.2% (6/13)
● D1S207	1p33-32	18.2% (2/11)	● D7S2536	7q22-31	33.3% (2/6)	chromosome 16		
● D1S248	1p21	28.6% (2/7)	● D7S684	7q34-35	20.0% (1/5)	● D16S423	16p13	41.7% (5/12)
● D1S484	1p13	44.4% (4/9)	● D7S498	7q35-36	50.0% (2/4)	● D16S405	16p13	62.5% (5/8)
● D1S422	1q31-32	16.7% (1/6)	chromosome 8			● D16S3068	16p12-11	20.0% (2/10)
● D1S249	1q32	36.4% (4/11)	●● D8S277	8pter-23	63.6% (7/11)	● D16S3067	16q21-22	36.4% (4/11)
● D1S213	1q32-42	23.1% (3/13)	●● D8S258	8p22	62.5% (5/8)	● D16S516	16q24	33.3% (2/6)
● D1S2785	1q43-44	33.3% (3/9)	●● D8S1752	8p22-12	75.0% (6/8)	● D16S413	16q24	40.0% (4/10)
chromosome 2			●● D8S285	8q11-12	10.0% (1/10)	chromosome 17		
● D2S162	2p24	33.3% (3/9)	●● D8S275	8q13-22	20.0% (2/5)	●● D17S1845	17p13-12	100.0% (9/9)
● D2S174	2p24-21	33.3% (2/6)	●● D8S266	8q24-ter	55.6% (5/9)	●● D17S796	17p13-12	81.8% (9/11)
● D2S2331	2p22-16	16.7% (1/6)	●● D8S558	8q24	60.0% (6/10)	●● D17S799	17p12-11	85.7% (6/7)
● D2S136	2p14-13	11.1% (1/9)	●● D8S1836	8q24	66.7% (6/9)	●● D17S1872	17q11-12	61.5% (8/13)
● D2S139	2p12	36.4% (4/11)	chromosome 9			●● D17S787	17q21-22	88.9% (8/9)
● D2S110	2q14	12.5% (1/8)	●● D9S178	9p24-22	33.3% (3/9)	●● D17S789	17q23-24	66.7% (6/9)
●● D2S111	2q24	62.5% (5/8)	●● D9S1679	9p21-13	0.0% (0/5)	●● D17S1352	17q24-25	100.0% (9/9)
● D2S117	2q32-33	40.0% (4/10)	●● D9S153	9q13-22	33.3% (2/6)	●● D17S937	17q24-25	85.7% (6/7)
● D2S159	2q33-37	42.9% (3/7)	●● D9S1689	9q22	42.9% (3/7)	chromosome 18		
● D2S206	2q33-37	66.7% (6/9)	●● D9S154	9q32-33	72.7% (8/11)	● D18S452	18p11	27.3% (3/11)
● D2S125	2q37-ter	44.4% (4/9)	●● D9S1795	9q34	80.0% (4/5)	● D18S480	18p11	14.3% (1/7)
chromosome 3			●● D9S66	9q34	75.0% (9/12)	● D18S455	18q12-22	44.4% (4/9)
● D3S3611	3pter-24	45.5% (5/11)	chromosome 10			●● D18S55	18q22	50.0% (4/8)
● D3S1286	3pter-24	20.0% (3/15)	●● D10S1729	10p15	50.0% (3/6)	● D18S58	18q22-23	44.4% (4/9)
● D3S1283	3p24-22	30.0% (3/10)	●● D10S191	10p12	41.7% (5/12)	chromosome 19		
● D3S1578	3p21	25.0% (3/12)	●● D10S1768	10p12-q11	37.5% (3/8)	● D19S901	19p13	28.6% (2/7)
●● D3S1284	3p12	55.6% (5/9)	● D10S207	10q11-21	12.5% (1/8)	● D19S932	19p13-q12	10.0% (1/10)
●● D3S1271	3q12-13	40.0% (4/10)	● D10S569	10q11-22	25.0% (2/8)	●● D19S412	19q13	50.0% (4/8)
● D3S1292	3q21-25	33.3% (3/9)	● D10S185	10q23-24	27.3% (3/11)	● D19S891	19q13	44.4% (4/9)
● D3S3694	3q22-24	27.3% (3/11)	● D10S187	10q24-25	33.3% (3/9)	chromosome 20		
● D3S1282	3q25-26	20.0% (2/10)	●● D10S587	10q26	62.5% (5/8)	● D20S116	20p13	16.7% (2/12)
● D3S1590	3q27	30.0% (3/10)	chromosome 11			● D20S188	20p12	30.0% (3/10)
● D3S1311	3q27-ter	16.7% (1/6)	●● D11S932	11p15	44.4% (4/9)	● D20S848	20p11-q12	10.0% (1/10)
chromosome 4			●● D11S4154	11p14-12	37.5% (3/8)	● D20S171	20p13	25.0% (2/8)
● D4S1599	4p16	14.3% (1/7)	●● D11S903	11p11	30.0% (3/10)	chromosome 21		
●● D4S391	4p15-14	22.2% (2/9)	●● D11S911	11q13-23	50.0% (4/8)	● D21S1256	21q11-21	0.0% (0/6)
●● D4S1592	4q12	50.0% (4/8)	●● D11S927	11q22-23	12.5% (1/8)	● D21S1258	21q21-22	25.0% (2/8)
●● D4S1538	4q21	44.4% (4/9)	●● D11S934	11q23-24	33.3% (2/6)	● D21S267	21q22	0.0% (0/3)
●● D4S2938	4q28-32	50.0% (4/8)	● D11S969	11q24-25	25.0% (1/4)	chromosome 22		
●● D4S2934	4q28-32	40.0% (2/5)	chromosome 12			● D22S420	22q11	42.9% (3/7)
●● D4S3046	4q28-32	42.9% (3/7)	● D12S1695	12p13	16.7% (1/6)	● D22S283	22q12-13	20.0% (1/5)
●● D4S1522	4q34-35	57.1% (4/7)	● D12S87	12p12-11	16.7% (1/6)	●● D22S282	22q13	50.0% (3/6)
chromosome 5			● D12S83	12q13-14	8.3% (1/12)	chromosome X		
●● D5S406	5p15-14	50.0% (3/6)	● D12S78	12q23	36.4% (4/11)	● DXS1060	Xp22	33.3% (4/12)
●● D5S432	5p15-14	0.0% (0/7)	● D12S76	12q24	33.3% (4/12)	● DXS989	Xp22	27.3% (3/11)
●● D5S477	5p14-13	44.4% (4/9)	● D12S367	12q24	42.9% (3/7)	● DXS8090	Xp22-21	11.1% (1/9)
●● D5S407	5p13-q12	63.6% (7/11)	chromosome 13			● DXS1003	Xp11-23	46.2% (6/13)
●● D5S644	5q14-15	50.0% (5/10)	● D13S175	13q11	44.4% (4/9)	● DXS986	Xq12-21	20.0% (2/10)
●● D5S2084	5q14-21	70.0% (7/10)	●● D13S219	13q12-13	85.7% (6/7)	● DXS8089	Xq21-25	28.6% (2/7)
●● D5S1983	5q31	50.0% (4/8)	●● D13S152	13q21	55.6% (5/9)	● DXS1001	Xq21-25	0.0% (0/5)
●● D5S422	5q32-33	33.3% (4/12)	●● D13S158	13q32-33	87.5% (7/8)	● DXS8043	Xq26-27	22.2% (2/9)
●● D5S498	5q35	42.9% (3/7)	●● D13S1315	13q32-34	77.8% (7/9)			
chromosome 6			chromosome 14					
● D6S344	6p25	16.7% (1/6)	● D14S64	14q11-12	12.5% (1/8)			
● D6S422	6p23-22	33.3% (2/6)	● D14S980	14q21-24	28.6% (2/7)			
● D6S291	6p21-21	20.0% (1/5)	● D14S63	14q23	33.3% (3/9)			
● D6S1714	6p21-11	14.3% (1/7)	● D14S68	14q24-31	40.0% (4/10)			
● D6S275	6q16	40.0% (2/5)	●● D14S65	14q32	50.0% (6/12)			
●● D6S287	6q21-23	60.0% (3/5)						
●● D6S310	6q22-24	81.8% (9/11)						
●● D6S441	6q25-27	62.5% (5/8)						
●● D6S1719	6q27	66.7% (6/9)						

● : Locus at which frequency of LOH was more than 30%
 ●● : Locus at which frequency of LOH was more than 50%

家族性症例との差違は認められなかった。また、*BRCA1* 変異症例では、解析した16マーカーのうち8マーカー領域において50%以上の LOH が検出された。

考 案

家族性乳癌卵巣癌の原因遺伝子として *BRCA1*,

BRCA2 が分離されたが、すべての家族性卵巣癌の約半数ではこれら両遺伝子の異常は検出されておらず、第3の原因遺伝子の存在が考えられている一方、第3の原因遺伝子は存在しないと推測する報告もある^{7)~9)}。Gayther et al.⁷⁾ はその根拠として、*BRCA1, 2* 遺伝子検査の不確実性あるいは散

Table 4 Loss of heterozygosity at candidate region in familial and sporadic cases with serous adenocarcinoma

Marker*	Locus	Familial	Sporadic	BRCA1
		No. of LOH case	No. of LOH case	No. of LOH case
		No. of informative case(%)	No. of informative case(%)	No. of informative case(%)
D5S407**	5p13-q12	7/11 (63.6%)	5/17 (29.4%)	N.D
D5S644**	5q14-15	5/10 (50.0%)	4/ 9 (44.4%)	N.D
D5S2084**	5q14-21	7/10 (70.0%)	2/ 8 (25.0%)	N.D
D5S1983**	5q31	4/ 8 (50.0%)	5/11 (45.5%)	3/12 (25.0%)
D6S287	6q21-23	3/ 5 (60.0%)	3/ 6 (50.0%)	N.D
D6S310	6q22-24	9/11 (81.8%)	7/14 (50.0%)	N.D
D6S441	6q25-27	5/ 8 (62.5%)	10/14 (71.4%)	9/12 (75.0%)
D6S1719	6q27	6/ 9 (66.7%)	9/13 (69.2%)	8/12 (66.7%)
D8S277**	8pter-23	7/11 (63.6%)	5/13 (38.5%)	9/17 (52.9%)
D8S258**	8p22	5/ 8 (62.5%)	5/12 (41.7%)	N.D
D8S1752**	8p22-12	6/ 8 (75.0%)	5/13 (38.5%)	8/15 (53.3%)
D8S266**	8q24-ter	5/ 9 (55.6%)	1/14 (7.1%)	6/15 (40.0%)
D8S558**	8q24	6/10 (60.0%)	5/15 (33.3%)	N.D
D8S1836**	8q24	6/ 9 (66.7%)	3/14 (21.4%)	6/13 (46.2%)
D9S154**	9q32-33	8/11 (72.7%)	13/35 (37.1%)	4/14 (28.6%)
D9S1795	9q34	4/ 5 (80.0%)	6/10 (60.0%)	N.D
D9S66**	9q34	9/12 (75.0%)	7/25 (28.0%)	5/14 (35.7%)
D13S219**	13q12-13	6/ 7 (85.7%)	3/11 (27.3%)	3/ 8 (37.5%)
D13S152**	13q21	5/ 9 (55.6%)	6/13 (46.2%)	8/12 (66.7%)
D13S158**	13q32-33	7/ 8 (87.5%)	9/24 (37.5%)	6/16 (37.5%)
D13S1315**	13q32-34	7/ 9 (77.8%)	6/19 (31.6%)	N.D
D17S1845	17p13-12	9/ 9 (100.0%)	7/13 (53.8%)	N.D
D17S796	17p13-12	9/11 (81.8%)	12/20 (60.0%)	12/12 (100%)
D17S799**	17p12-11	6/ 7 (85.7%)	6/23 (26.1%)	5/14 (35.7%)
D17S1872**	17q11-12	8/13 (61.5%)	6/18 (33.3%)	11/16 (68.8%)
D17S787**	17q21-22	8/ 9 (88.9%)	14/31 (45.2%)	N.D
D17S789**	17q23-24	6/ 9 (66.7%)	8/17 (47.1%)	7/14 (50.0%)
D17S1352	17q24-25	9/ 9 (100.0%)	6/11 (54.5%)	N.D
D17S937	17q24-25	6/ 7 (85.7%)	8/11 (72.7%)	N.D

*Marker at which frequency of LOH was more than 50% in familial cases

**Marker at which frequency of LOH was more than 50% in sporadic cases

N.D : Not done

発性卵巣癌症例の偶発的な家系内集積を挙げている。今回、本研究において実施した *BRCA1, 2* 遺伝子異常の検索はイントロン境界領域部分を含んだすべてのエクソンをダイレクトシーケンス法で解析しているため、従来より実施されてきた PTT (Protein Truncation Test), SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) 等に比較して高度な信頼性が得られていると考えられる。しかし今回の結果では、*BRCA1* の存在する 17q 領域、*BRCA2* の存在する 13q 領域に高頻度の LOH が観察されたことより、ダイレクトシーケンス法で

も検出が困難なスプライス変異等の症例が混入している可能性も否定はできない。一方、*BRCA1, 2* の異常が検出されなかった家族性卵巣癌 40 症例の発症年齢が明らかに散发性症例より低年齢であることは、遺伝性の関与を推察させる結果である。加えてわが国における卵巣癌の発症頻度が、欧米に比較して約 3~4 分の 1 と低いことより¹¹⁾、これら 19 家系に偶発的に複数の卵巣癌患者が集積した可能性は極めて低く、浸透率の低い感受性遺伝子の存在が示唆されよう。

疾患の感受性遺伝子を分離するアプローチとし

て、(1)脳組織内に多量のアミロイド前駆物質が貯留するアルツハイマーを対象としてアミロイド前駆蛋白の解析を行う、あるいは免疫異常を高率に合併する気管支喘息の疾患遺伝子分離を免疫関連遺伝子領域の解明により行う等、疾患の表現性質を利用する方法、次いで(2)家系内に多数の患者が発生する場合は連鎖解析によるポジショナルクローニングが用いられ、過去多数の遺伝子が分離されてきた。ところが、我々が対象としている *BRCA1, 2* に異常を認めない家族性卵巣癌の場合、家系内の患者数が少ないことより、従来の連鎖解析を行うことは困難である。一方、姉妹同胞を対象とした罹患同胞対解析の場合、100家系以上という多数の家系が必要とされること、偽陽性の頻度が高いこと、さらに染色体内の相同組換えが利用できないなどの欠点が指摘されている。

悪性腫瘍において癌抑制遺伝子の機能消失により癌化が起きる場合、原因遺伝子の存在する領域では健常対立遺伝子が欠失していることを利用して、LOH 解析、CGH (Comparative Genomic Hybridization) 解析が実施されている。しかしながら、同じ原理を利用してはいるものの、LOH 解析と CGH 解析を比較した場合、全染色体にわたる LOH 解析には煩雑な実験手技が必要であるが、使用するマイクロサテライトマーカーを高密度に設定することにより、詳細な解析が可能となる。

本研究では、*BRCA1, 2* に異常を認めない家族性卵巣癌症例においてすべての組織型を対象に解析を加えた場合、高頻度に LOH が観察されるマーカーが連続する有意な染色体領域は検出されなかった。しかし組織型を漿液性腺癌に限定したところ、7つの染色体領域に高頻度の LOH が観察された。さらに散発性卵巣癌との比較において、5つの染色体領域に家族性症例特有の LOH 領域が示され、家族性卵巣癌の発症に関連する遺伝子領域の存在することが示唆された。組織型の限定に関しては、*BRCA1* に関連する本邦の家族性卵巣癌症例の90%以上が漿液性腺癌であること¹²⁾、あるいは上皮性卵巣癌のうち、明細胞腺癌、類内膜腺癌が子宮内膜症組織より発生するとの報告もあり、第3の家族性卵巣癌に関連する遺伝子も、組織型

を選択し漿液性腺癌の発生に關与する可能性も十分に考えられ、今回の実験結果を支持するものと思われる。

今回、高頻度に LOH の観察された染色体領域の中では、6q 領域にエストロゲンレセプター α (*ER α*) 遺伝子の存在することが知られ¹³⁾、Devilee et al.¹⁴⁾ が乳癌にて6q に高頻度の LOH が存在すること、さらに Lee et al.¹⁵⁾ は、卵巣癌でも6q に64%の LOH が認められたことを報告している。また、Schultz et al.¹⁶⁾ は9q32-34領域の LOH の頻度が、散発性上皮性卵巣癌で47%、家族性上皮性卵巣癌で83%と報告している。13q12-13領域には *BRCA2* 遺伝子が存在し⁵⁾、また17p13領域には p53が存在し、Okamoto et al. は卵巣癌の80%に遺伝子欠失を検出している¹⁷⁾。また、17p13領域には散発性卵巣癌に關与するとされる *OVCA1*, *OVCA2* が単離されている¹⁸⁾¹⁹⁾。Cliby et al. は上皮性卵巣癌37例での LOH 解析にて、5q(43%)、6p(62%)、6q(57%)、7p(36%)、8p(40%)、9q(54%)、13q(56%)、14q(47%)、15q(36%)、17p(81%)、17q(76%)、18q(43%)、21q(36%)、22q(71%)と報告している²⁰⁾。これらの報告は今回の解析結果と矛盾せず、卵巣癌の発癌機構に關連する遺伝子異常の存在を示唆するものである。

一方、家族性大腸腺腫症の原因遺伝子である *APC* 遺伝子が存在する5q21領域は、今回の解析では LOH 頻度が70%で高率であったが、HNPCC の原因遺伝子である *MLH1* 遺伝子の存在する3p21領域、*MSH2* 遺伝子の存在する2p21-22領域、あるいは *p16* 遺伝子(家族性悪性黒色腫)の存在する9p21領域、*WT1* 遺伝子(Wilms 腫瘍)の存在する11p13領域では、今回の LOH 頻度は低率であった。今後これらの遺伝子と本研究で行われた家族性卵巣癌症例との關連について検討を加えると同時に、新規の關連遺伝子の分離同定には、より高密度なマイクロサテライトマーカーを用いた共通欠失領域の検討、あるいは SNP (Single Nucleotide Polymorphism) を用いたより詳細な相關解析などにより候補領域の限定を進めてゆく必要があると思われる。

本研究に多大なる御協力を頂いた諸先生方に厚く御礼申し上げます。協力者一覧および協力機関(敬称略, 五十音順)

新井 繁(済生会新潟病院), 荒川敦史(名古屋市立大), 荒木 勤(日本医大), 飯田俊彦(済生会宇都宮病院), 石岡千加史(東北大), 石丸忠之(長崎大), 出馬晋二(大阪医大), 市川 尚(赤心堂病院), 伊藤裕司(聖マリア病院), 井上泰(東京厚生年金病院), 岩本麻里(愛媛大), 牛嶋公生(久留米大), 梅咲直彦(大阪市立大), 榎本隆之(大阪大), 大野正文(香川医大), 長田久夫(千葉大), 大嶋一也(南丹病院), 小田高明(国立小倉病院), 小畑孝四郎(近畿大), 柏村正道(産業医大), 片渕秀隆(熊本大), 加藤政美(長岡中央総合病院), 金澤浩二(琉球大), 鎌田裕之(栃木がんセンター), 北井啓勝(社保埼玉中央病院), 木寺義郎(佐世保共済病院), 葛谷和夫(愛知がんセンター), 工藤尚文(岡山大), 小林巖(名古屋第二赤十字病院), 小林 浩(浜松医大), 斎藤憲康(荘内病院), 坂元秀樹(日本大), 佐々木茂(日医大多摩永山病院), 佐治文隆(大阪府立成人病センター), 佐藤信二(東北大), 上坊敏子(北里大), 神保恒雄(東京労災病院), 鈴木 瞭(国立大阪病院), 鈴木健治(けいゆう病院), 鈴木光明(自治医大), 須藤寛人(長岡赤十字病院), 須藤真人(山本総合病院), 高野 敦(青森厚生病院), 高橋 威(新潟がんセンター), 高橋完明(新発田病院), 高橋道子(埼玉県立がんセンター), 瀧澤 憲(三井記念病院), 田崎民和(社保久留米第一病院), 田島秀郎(埼玉医大), 田中耕平(秋田赤十字病院), 田中忠夫(東京慈恵医大), 谷口一郎(大分県立病院), 玉舎輝彦(岐阜大), 千鳥哲也(富山市民病院), 辻省次(新潟大), 辻本正彦(大阪警察病院), 綱脇 現(熊本市市民病院), 恒松隆一郎(国立がんセンター), 寺元好弘(奈良国立病院), 徳永昭輝(新潟市民病院), 豊田長康(三重大), 鳥居裕一(聖隷浜松病院), 中村 稔(済生会三条病院), 永田一郎(防衛医大), 西山藤司夫(加茂病院), 野上保治(社保群馬中央総合病院), 野田恒夫(聖隷三方原病院), 長谷川和男(兵庫県立成人病センター), 波多江正紀(鹿児島市立病院), 平井康夫(癌研究会附属病院), 平川俊夫(九州大), 藤井恒夫(国立呉病院), 藤井秀治(国立長崎中央病院), 藤本征一郎(北海道大), 藤原恵一(川崎医大), 万代昌紀(京都大), 水沼英樹(群馬大), 村上 誠(佐世保市立病院), 本山覚(神戸大), 森 敏尚(北九州市立医療センター), 矢島正純(東京女子医大), 安田 允(慈恵医大柏病院), 山鳥一郎(国立岡山病院), 山本久美夫(大阪市立総合医療セン

ター), 大和竜夫(佼成病院), 山本 勉(越谷市立病院), 山本泰久(おおもと病院), 吉永光裕(鹿児島大), 和田裕一(国立仙台病院)。最後に実験すべてにおいて指導を賜った相田 浩, 関根正幸, 加嶋克則先生に御礼申し上げます。

文 献

1. Narod SA, Madlensky L, Bradley L, Cole D, Tonin P, Rosen B, Risch HA. Hereditary and familial ovarian cancer in southern Ontario. *Cancer* 1994 ; 74 : 2341—2346
2. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994 ; 86 : 1600—1608
3. Schildkraut JM, Risch N, Thompson WD. Evaluating genetic association among ovarian, breast, and endometrial cancer : evidence for a breast/ovarian cancer relationship. *Am J Hum Genet* 1989 ; 45 : 521—529
4. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, Hussey C, Tran T, McClure M, Frye C, Hattier T, Phelps R, Haugen-Strano A, Katcher H, Yakumo K, Gholami Z, Shaffer D, Stone S, Bayer S, Wray C, Bogden R, Dayananth P, Ward J, Tonin P, Narod S, Bristow PK, Norris FH, Helvering L, Morrison P, Rosteck P, Lai M, Barrett JC, Lewis C, Neuhausen S, Cannon-Albright L, Goldgar D, Wiseman R, Kamb A, Skolnick MH. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994 ; 266 : 66—71
5. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, Nguyen K, Seal S, Tran T, Averill D, Fields P, Marshall G, Narod S, Lenoir GM, Lynch H, Feunteun J, Devilee P, Cornelisse CJ, Menko FH, Daly PA, Ormiston W, McMaunus R, Pye C, Lewis CM, Cannon-Albright LA, Peto J, Ponder BAJ, Skolnick MH, Easton DF, Goldgar DE, Stratton MR. Localization of a Breast Cancer Susceptibility Gene, *BRCA2*, to Chromosome 13q12-13. *Science* 1994 ; 265 : 2088—2090
6. Takano M, Aida H, Tsuneki I, Takakuwa K, Hasegawa I, Tanaka H, Saito M, Tsuji S, Sonoda T, Hatae M. et al. Mutational analysis of *BRCA1* gene in ovarian cancer and Breast-ovarian cancer families in Japan. *Jpn J Cancer Res* 1997 ; 88 : 407—413
7. Gayther SA, Russell P, Harrington P, Antoniou AC, Easton DF, Ponder BA. The contribution of

- germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations to familial ovarian cancer : No evidence for other ovarian cancer susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 1999 ; 65 : 1021—1029
8. *Pharoah PD, Easton DF, Stockton DL, Gayther SA, Ponder BA.* Survival in familial, *BRCA1* and *BRCA2* associated epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1999 ; 59 : 868—871
 9. *Sekine M, Nagata H, Tsuji S, Hirai Y, Fujimoto S, Hatae M, Kobayashi I, Fujii T, Nagata I, Ushijima K, Obata K, Suzuki M, Yoshinaga M, Umesaki N, Satoh S, Enomoto T, Motoyama S, Tanaka K, The Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group.* Localization to chromosome 3p22-25 of a novel susceptibility gene for familial ovarian cancer. *Hum Mol Genet* 2001 (in press)
 10. *Piver MS, Baker TR, Jishi MF, Sandecki AM, Tsukada Y, Natarajan N, Mettlin CJ, Blake CA.* Familial ovarian cancer : A report of 658 families from the gilda raadner familial ovarian cancer registry 1981—1991. *Cancer* 1993 ; 71 : 582—588
 11. 富永祐民, 青木國雄, 花井 彩, 栗原 登, 編集. がん・統計白書: 罹患/ 死亡/ 予後. 東京: 篠原出版 1993 ; 107—144
 12. *Aida H, Takakuwa K, Nagata H, Tsuneki I, Takano M, Tsuji S, Takahashi T, Sonoda T, Hatae M, Takahashi K, Hasegawa K, Mizunuma H, Toyoda N, Kamata H, Torii Y, Saito N, Tanaka T, Yakushiji M, Araki T, Tanaka K.* Clinical features of ovarian cancer in Japanese women with germline mutations of *BRCA1*. *Clin Cancer Res* 1998 ; 4 : 235—240
 13. *Menasce LP, White GRM, Harrison CJ, Boyle JM.* Localization of the estrogen receptor locus ER to chromosome 6q25. 1 by FISH and a simple post-FISH banding technique. *Genomics* 1993 ; 17 : 263—265
 14. *Devilee P, van Vliet M, van Sloun P, Kuipers Dijkshoon N, Hermans J, Pearson PL, Cornelisse CJ.* Allelotype of human breast carcinoma : a second major site for loss of heterozygosity is on chromosome 6q. *Oncogene* 1991 ; 6 : 1705—1711
 15. *Lee JH, Kavanagh JJ, Wildrick DM, Wharton JT, Blick M.* Frequent loss of Heterozygosity on chromosomes 6q, 11, and 17 in human ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1990 ; 50 : 2724—2728
 16. *Schultz DC, Vanderveer L, Buetow KH, Boente MP, Ozols RF, Hamilton TC, Godwin AK.* Characterization of chromosome 9 in human ovarian neoplasm identifies frequent genetic imbalance on 9q and rare alterations involving 9p, including CDKN2. *Cancer Res* 1995 ; 55 : 2150—2157
 17. *Okamoto A, Sameshima Y, Yokoyama S, Terashima Y, Sugimura T, Terada M, Yokota J.* Frequent allelic losses and mutations of the p53 gene in human ovarian cancer. *Cancer Res* 1991 ; 51 : 5171—5176
 18. *Schultz DC, Vanderveer L, Berman DB, Hamilton TC, Wong AJ, Godwin AK.* Identification of two candidate tumor suppressor genes on chromosome 17p13. 3. *Cancer Res* 1996 ; 56 : 1997—2002
 19. *Phillips NJ, Zeigler MR, Deaven LL.* A cDNA from the ovarian cancer critical region of deletion on chromosome 17p13. 3. *Cancer Lett* 1996 ; 102 : 85—90
 20. *Cliby W, Rittland S, Hartmann L, Dodson M, Halling KC, Keeney G, Podratz KC, Jenkins RB.* Human epithelial ovarian cancer allelotype. *Cancer Res* 1993 ; 53 : 2393—2398
(No. 8187 平13・5・21受付, 平13・6・18採用)