Osaka University Knowledge Archive

Title	Involvement of the Retinoblastoma Gene in Primary Osteosarcoma
Author(s)	荒木, 信人
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37192
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【47】

氏名・(本籍)	荒木信人（あらき のぶひと）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9698 号
学位授与の日付	平成3年3月26日
学位授与の要件	医学研究科 外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Involvement of the Retinoblastoma Gene in Primary Osteosarcoma **(骨肉腫発症におけるレチノブラストーマ遺伝子の関与)**
論文審査委員	(主査) 教授 小野 啓郎 (副査) 教授 吉川 寛 教授 高井新一郎

論文内容の要旨

(目　的)

近年の分子生物学の進歩により，多くの悪性腫瘍の発生原因が遺伝子異常にあることが明らかとなってきている。骨肉腫は，小児期にみられる悪性度の高い骨腫瘍であるがその分子生物学的特徴はまだ不明である。本研究は骨肉腫発症における遺伝子異常の関与の検索を目的とし，主としてレチノブラストーマ遺伝子（Rb遺伝子）の異常について検討した。レチノブラストーマ遺伝子は，遺伝性腫瘍である網膜芽細胞腫における発癌抑制遺伝子（anti-oncogene）として13番染色体のq14領域に同定，単離された。さらに網膜芽細胞腫の治療後に発症する二次性腫瘍としても最も頻度の高い骨肉腫においても発癌に関与する事が示唆されている。そこで，Rb遺伝子が癌抑制遺伝子として骨肉腫発症にどの程度関与しているのかをSouthern blot法，Northern blot法により検討した。

(対象と方法)

1987年より1989年の間に当教室にて治療を行った骨肉腫23症例を対象とし，生検もしくは広範切除術時の摘出腫瘍組織及び，患者末梢血白血球を検体として用いた。網膜芽細胞腫の既往のある症例はなかった。化学療法は腫瘍組織に壊死や炎症細胞浸潤を引きおこすため，施行前の検体を主として用いた。対照として軟骨肉腫，Ewing肉腫等他の骨軟部腫瘍も用いた。

高分子DNA抽出は，Maniatisらの方法に従い，得られたDNA15μgをHind Ⅲにて切断，0.7%アガロースゲル電気泳動後，ナイロンフィルターにブロッティングした。

RNA抽出はイソチオシアンⅢグアニジウム－塩化セシウム法に従って行った。電気泳動はグリオキサール法にて行った。

現在，唯一同定されているanti-oncogeneであるレチノブラストーマ（網膜芽細胞腫）遺伝子（Rb遺伝子）はDr. S. H. Friend（Massachusetts Eye and Ear Infirmary, U. S. A.）より供与された。プローブはrandom primer method（Amershan）により^{32}P－dCTPにて標識し，通常の方法によりハイブリダイゼーションをおこなった。

（成　績）

Rb遺伝子の構造異常はDNAレベルで骨肉腫23症例中8例に認められた。内3例はhomozygousなdeletionと考えられ，症例1では，4.5kbから9.5kb Hind Ⅲ断片までのRb遺伝子内部での欠失，症例2では9.4kb，症例3では7.4kbと4.5kbバンドが全くみられなかった。さらに症例3の腫瘍組織では，9.4kb，6.2kb，5.3kb，2.05kbのバンドが白血球に比し薄く，この部位の相同染色体の片方での欠失（heterozygous deletion）と考えられた。以上のようにして確認されたDNAレベルでの異常は骨肉腫症例の約35％にみられ，この頻度は網膜芽細胞腫とほぼ同程度であり，これらの症例におけるRb遺伝子の発症との関与が示唆される。また，8例中6例は，7.4kb断片の欠失であり，この部位がhot spotである可能性がある。

さらに検体の採取できた8症例のRNAレベルでの解析では，3.5kbの短い転写が行われていた1例を除いて他の7例ではRb遺伝子の発現がみられなかった。8例中5例はDNAレベルでは異常の見られなかった症例であり，このことはtranscriptionalな異常の存在も示唆しており，Rb遺伝子の不活性化の頻度はより高いと予想される。

（総　括）

Rb遺伝子は，網膜芽細胞腫における癌抑制遺伝子として同定され，同腫瘍に於けるこの遺伝子の構造異常はDNAレベルで約40％，RNAレベルでは解析されたほとんど全ての症例において異常がみられている。骨肉腫に関する我々の結果では，異常の頻度は35％とほぼ同程度であり，Rb遺伝子を移入した骨肉腫細胞が腫瘍原性を失うという報告とも考えあわせると，以上の結果はRb遺伝子が骨肉主発症に強い関係を持っていることを意味していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

骨肉腫は小児期にみられる悪性度の高い骨腫瘍であるが，その分子生物学的特徴はまだ不明である。本研究は骨肉腫発症において，発癌抑制遺伝子であるレチノブラストーマ遺伝子の異常がその発症に強く関与していることを明らかにしたものである。また，その異常が腫瘍細胞においてのみ見られていることからsomaticなレベルにおけるhomozygousなdeletionの発生が示された点も興味深い。さらに，他の骨軟部腫瘍においても検討を行い，軟部悪性線維性組織球腫の発症にも関与している可能性を明らかにした点でも重要性が高い。今後の癌診断，治療，腫瘍発生の解明にむけて遺伝子異常の研究推進に寄与するところ大であり，学位論文にふさわしいと考えられる。