



Title	Cytogenetics of tumor cells from patients with nonfamilial renal cell carcinoma
Author(s)	菅尾, 英木
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37676">https://hdl.handle.net/11094/37676</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	菅 尾 英 木
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 9 9 1 7 号
学位授与年月日	平成 3 年 10 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Cytogenetics of tumor cells from patients with nonfamilial renal cell carcinoma (非家族性腎細胞癌の細胞遺伝学的検討)
論文審査委員	(主査) 教 授 奥 山 明 彦
	(副査) 教 授 鎌 田 武 信 教 授 高 井 新 一 郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔 目 的 〕

腎細胞癌は、稀に家族発生することが知られており、網膜芽細胞腫や Wilms 腫瘍とともに、細胞遺伝学的に興味のもたれている腫瘍である。そこで、臨床上頻度が高く問題の多い非家族性（特発性）腎細胞癌の細胞遺伝学的特性を明らかにする目的で、個々の症例の腫瘍細胞の染色体分析を行なった。

#### 〔 方 法 〕

腎腫瘍のため腎摘除術を施行し、組織学的に腎細胞癌と診断された20例について、腫瘍細胞の培養を行ない染色体を分析した。一部の症例では同じ腫瘍組織の flow cytometry (FCM) を同時に行ない両者を比較した。

- 1) 腎腫瘍細胞の培養方法：腎腫瘍組織を、ヒアルロニダーゼ・コラゲナーゼ及び DNase を含む培地中で壊死部や線維性組織を可及的に除去しつつ細切した後遠心する。trypsin を加え30分間攪拌し金属メッシュを通し PBS にて洗浄した後、20% FCS を加えた培地に細胞を浮遊させ、37°C で 5% CO<sub>2</sub> incubator 内にて培養した。最初の継代は培養開始後 1～2 週間目に trypsin 処理にて行なった。初期の 5 症例は 4 代から 15 代継代した細胞を用い、他の 15 例は 1～2 代継代した細胞を用い染色体分析を行なった。
- 2) 腎腫瘍細胞の染色体分析：培養細胞をコルヒチンで 3 時間処理した後 trypsin で剥離し KC1 にて低張処理を行ない、カルノア液で固定しギムザ染色にて核型の分析を行なった。同じ異常が 2 個以上の細胞で認められたものをクローン性の染色体異常とした。

3) 腎腫瘍組織のFCM: 出血壊死巣や線維性組織を除いた腫瘍組織を数mm角にし-80℃で凍結保存した。FCMを行なう直前に解凍して細切後, RNase 及び Triton X-100 内で攪拌しナイロンメッシュを通して single cell とした後 propidium iodide で染色し, FCMにて DNA-histogram を作成した。

#### 〔成績〕

20例の非家族性腎細胞癌患者から得られた培養腫瘍細胞の染色体分析を試みたが, 4例は分析に必要な分裂中期の細胞が得られず16例(男13・女3)で検討した。16例中2例は正常の核型で14例が異常な核型を示しその内2例には2種の異なるクローン性の異常を認めた。染色体異常は、Y染色体の欠失(8/13), 及び trisomy 7あるいは tetrasomy 7(9/16)が高頻度に認められた。またX染色体の過剰が4例, 第3染色体短腕(3p)の転座が4例, 3pの部分欠失が2例, monosomy 3が2例に認められた。16個のクローン性の異常を示す細胞の染色体数のモードは44から94で, diploidもしくは pseudodiploid が6, hypodiploid が7, near-polyploid aneuploidが3クローン(2例)であった。FCMは11例で施行しており, near-polyploid aneuploidを示した2例はともにDNA-histogramでも aneuploid patternを示していた。染色体分析の結果と臨床所見との関連性は明確なものなかったが, 染色体分析ができなかった4例は全例 low-grade・low-stageの症例であった。

#### 〔総括〕

腎細胞癌の染色体分析の結果, 高頻度にY染色体の欠失と第7染色体及びX染色体の過剰が認められたが, Y染色体の欠失は高齢者の正常細胞でも認められることがあり腎細胞癌に特有の変化とは考えにくい。第7染色体上には epidermal growth factor receptor の1部を code している erb B proto-oncogene と platelet-derived growth factor A chain を code している遺伝子があり, trisomy 7は癌細胞の異常な増殖能に関与していると考えられるが腎細胞癌以外の悪性腫瘍でも高頻度に認められている。性染色体及び第7染色体の異常は数の異常であり, 培養あるいは増殖により2次的な変化と考えられるのに対し, 第3染色体の異常は染色体の数だけでなく構造上の異常も認められ腎細胞癌の発生に関連している可能性が示唆される。調べ得た16例中8例に第3染色体の異常があり, 短腕の部分欠失・転座及び monosomy 3 が認められているが, これらの異常は全て3p上の未知の遺伝子の欠失が考えられる。網膜芽細胞腫の第13染色体長腕(13p14)の欠失及びWilms腫瘍の第11染色体短腕(11p13)の欠失が疾患特異的染色体異常として確立しているが, 同様にこの未知の遺伝子が腎細胞癌の発生に関連した tumor suppressor gene (anti-oncogene)の可能性が考えられている。光顕での染色体分析で3pに異常の認められなかった例でも point mutation 等の submicroscopic な遺伝子異常の可能性は十分に考えられ今後3pを中心としたDNA-sequenceの検討が必要と思われる。

## 論文審査の結果の要旨

20例の非家族性腎細胞癌の腫瘍組織より短期間の継代培養を行なうことにより腫瘍細胞の染色体分析が高率に可能であることを示し、腎細胞癌に第3染色体に関係した異常、Y染色体の欠失と第7染色体およびX染色体の過剰を高頻度に認めている。性染色体及び第7染色体の異常が染色体の数みの異常であるのに対し、第3染色体の異常としては、短腕の部分欠失・転座及び monosomy 3 を認めており、染色体の数だけでなく構造上の異常もあることを示した。また第3染色体の異常の出現頻度は培養細胞の継代数や臨床所見とは無関係に高いことを示した。

第3染色体短腕に腎細胞癌の発生に関連した遺伝子の存在が考えられているが、以上の結果は光顕レベルでの染色体分析により腎細胞癌と第3染色体の異常との関連性を示したもので学位論文に値する。