



Title	Deletion mapping of chromosome 1p and 22q in pheochromocytoma
Author(s)	辛, 栄成
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38128
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	しん 辛 せい 栄 せい 成
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 6 7 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 5 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Deletion mapping of chromosome 1p and 22q in pheochromocytoma (副腎褐色細胞腫における第 1 番染色体短腕および第 22 番染色体長腕 上の共通欠失領域とそれら欠失の相互関係の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 森 武 貞 (副査) 教 授 高井新一郎 教 授 辻本 賀英

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

近年, 分子レベルで多段階発癌の解明が進み, 腫瘍の発生進展機構が明らかにされつつある。副腎褐色細胞腫でも分子レベルの解析からその発生進展に複数の遺伝子の関与が示唆されている。副腎褐色細胞腫は約 10 % が遺伝性でその多くは多発性内分泌腫瘍症 2 A 型 (MEN 2 A) に合併する。MEN 2 A 原因遺伝子はリンケージ解析より第 10 番染色体動原体近傍に存在することが明らかになったが, 副腎褐色細胞腫では第 10 番染色体での欠失頻度は低く, むしろ第 1 番染色体短腕および第 22 番染色体長腕で欠失頻度が高い。このことから副腎褐色細胞腫の発生進展に関与する腫瘍抑制遺伝子が第 1 番染色体短腕および第 22 番染色体長腕に存在するものと考えられている。それら腫瘍抑制遺伝子の座位を限定すること, および両者の相互関係を明らかにすることを目的として以下の研究を行なった。

(材料と方法)

- 1) 腫瘍及び正常組織; 副腎褐色細胞腫 22 例を対象とした (MEN 2 A に伴う遺伝性; 9 例, 散発性; 13 例)。腫瘍は摘出後, 直ちに液体窒素で凍結し -80°C で保存し, 対応する正常組織として同一患者より末梢血を採取しデキストラン法で白血球を分離した。
- 2) 高分子量 DNA の抽出, 制限酵素による切断とブロッティング; 腫瘍を液体窒素で凍結しながら乳鉢でパウダー状に粉碎し, ライシスバッファー中でプロテアーゼ K を反応させ高分子量 DNA を抽出した。分離した白血球からも同様に高分子量 DNA を抽出した。抽出した高分子量 DNA 各 5 μg を制限酵素で完全に切断した後, アガロースゲル電気泳動にて断片を分離し, サザン法にてナイロンフィルター上にプロットした。
- 3) プローブ; 第 1 番染色体の多型性プローブを 13 種 (短腕上: 11 種, 長腕上: 2 種), 第 22 番染色体長腕の多型性プローブを 11 種用いた。
- 4) ハイブリダイゼーション; $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ dCTP を用いてランダムプライマー法でプローブをラベルし, 7 % PEG-10 % SDS 液中で 65°C の条件下でのハイブリダイゼーション後, オートラジオグラフィーを行った。バンドの濃淡を比較しアレルの欠失を判定した。

(結 果)

- 1) 副腎褐色細胞腫で第 1 番染色体短腕および第 22 番染色体長腕での欠失の頻度はそれぞれ 55 % (12/22), 40 % (8/20) であった。

2) 第22番染色体長腕で欠失を認める8例の内7例は第1番染色体短腕でも欠失を認め有意の相関が認められた ($p=0.049$, Fisher's exact test)。逆に第1番染色体短腕で欠失を認める12例の中7例に第22番染色体長腕で欠失を認めたが、5例には欠失を認めなかった。

3) 遺伝例および散发例の第1番染色体短腕での欠失の頻度はそれぞれ56% (5/9), 54% (7/13) で、第22番染色体長腕での欠失の頻度は57% (4/7), 31% (4/13) でありいずれも両者の間には有意の差はなかった。

4) 第1番染色体短腕および第22番染色体長腕上の共通欠失領域はそれぞれD1S73-D1S63, D22S24-D22S1であった。

5) 染色体の部分欠失の有無と性別、発症年齢、腫瘍の大きさとの間には明らかな相関はみられなかった。

(総括)

1) 第1番染色体短腕および第22番染色体長腕での欠失の頻度はそれぞれ55% (12/22), 40%であり、第22番染色体長腕より第1番染色体短腕で高い傾向にある。また、第22番染色体長腕で欠失を認める症例はほとんど第1番染色体短腕でも欠失を認めることを考え合わせると第1番染色体短腕上の腫瘍抑制遺伝子の失活が第22番染色体長腕上の腫瘍抑制遺伝子の失活より先行するものと推定される。

2) 遺伝例と散发例で第1番染色体短腕および第22番染色体長腕での欠失頻度に差がないことから第1番染色体短腕および第22番染色体長腕上の腫瘍抑制遺伝子は遺伝性、散发性に関係なく発生進展に重要である。

3) 神経芽細胞腫は副腎褐色細胞腫と同様に neural-crest 由来の腫瘍で、第1番染色体短腕で欠失を高頻度に認めるが、神経芽細胞腫の第1番染色体短腕上の共通欠失領域と今回限定し得た領域 (D1S73-D1S63) は異なり、第1番染色体短腕上には neural-crest 由来の腫瘍に關与する腫瘍抑制遺伝子は少なくとも2個存在するものと推測される。

4) 神経線維腫症2型および髄膜腫も副腎褐色細胞腫と同様に neural-crest 由来で、神経線維腫症2型の原因遺伝子はD22S-D22S28に、髄膜腫に關した抑制遺伝子はD22S15-qterまたはMB-qter、あるいはD22S1-D22S15に存在すると報告されているが、今回限定し得た領域 (D22S24-D22S1) とは異なることが明らかとなった。第22番染色体長腕上にこれらの腫瘍の発生に關与する腫瘍抑制遺伝子は複雑存在するものと推測される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、腫瘍におけるヘテロ接合性の消失 (LOH) を検討することによって、副腎褐色細胞腫の発生・進展に關与する癌抑制遺伝子の座位を明らかにしようとしたものである。その結果、第1染色体短腕上 (1p) ではD1S63-D1S73の間および第22番染色体長腕上 (22q) ではD22S10-D22S1の間に癌抑制遺伝子の座位が限定され、さらに、1p上のLOHと22q上のLOHが互いに關連することが明らかとなった。これらの結果より副腎褐色細胞腫の発生・進展には第10番染色体上のMEN2A遺伝子の変異以外に、1p及び22q上の癌抑制遺伝子が關与しており、これら複数の遺伝子の多段階的変異が必要であるものと考えられた。また、共通欠失領域の検討により、1p上の癌抑制遺伝子は神経芽細胞腫に關与する抑制遺伝子と、22p上の癌抑制遺伝子は神経線維腫症2型や髄膜腫に關与する抑制遺伝子とは異なる可能性も示唆された。本研究は、今後、本疾患のみならず広く一般の腫瘍の発生進展機構の解明にも大いに寄与するものであり、学位に値するものと考えられる。