

Title	A detailed deletion mapping of the short arm of chromosome 3 in sporadic renal cell carcinoma
Author(s)	山川, 和弘
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38287
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	山 川 和 弘
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 2 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 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	A detailed deletion mapping of the short arm of chromosome 3 in sporadic renal cell carcinoma (非遺伝性腎細胞癌における詳細な第3染色体短腕欠失地図の作製)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 原 謙 一 (副査) 教 授 吉 川 寛 教 授 高 井 新 一 郎

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

腎細胞癌, 肺癌, 乳癌, 子宮頸癌, 卵巣癌, 睾丸腫瘍など複数の癌において, 第3染色体短腕領域の特異的な欠失が報告され, この領域にこれらの癌の癌抑制遺伝子が存在すると考えられている。特に腎細胞癌においては第3染色体短腕の欠失頻度が他の染色体のそれに比べて最も高く, この領域に存在する癌抑制遺伝子の機能の喪失が, 腎細胞癌の形成に大きな役割を果たしているものと考えられる。本研究では, 腎細胞癌における癌抑制遺伝子の存在部位を限定することを目的として, 新たに単離した多数の RFLP (restriction fragment length polymorphisms) マーカーを用いて本領域の詳細な欠失地図を作製するとともに, 同定された共通欠失領域と染色体の相互転座を伴う遺伝性腎癌家系における転座点との比較を試みた。

(方法ならびに結果)

40例の腎細胞癌患者より癌組織及び正常腎組織を得, それぞれよりプロテアーゼ処理, フェノール, クロロホルム処理, エタノール沈殿により DNA を抽出, 精製した。更に適当な制限酵素で切断したあと電気泳動し, サザントランスファーによりプロットを作成した。このプロットに対し, 蛍光 in-situ ハイブリダイゼーション及び遺伝的連鎖解析により第3染色体上に正確にマップした25の新規なマーカーを含む30の RFLP マーカーをプローブとしてハイブリダイゼーションを行なった。相同染色体を区別できるという RFLP マーカーの性質を利用することにより各マーカーに対応する染色体部位の欠失の有無を確認し, 各症例における第3染色体短腕の詳細な欠失地図を得た。少なくとも一つのマーカーでヘテロ接合性を示した38の症例のうち30の症例 (79%) が癌組織においてヘテロ接合性の消失 (Loss of heterozygosity; LOH) を示し, 第3染色体短腕の高頻度の欠失が確認された。又, この30症例のうち12例 (32%) がヘテロ接合性を示した全てのマーカーで LOH を示し, 18例 (47%) がヘテロ接合性を示したマーカーの一部で LOH を示した。これら部分的な染色体の欠失を示した症例より 3p21.3及び3p12-14の2領域が共通欠失領域として同定され, 少なくとも2つの癌抑制遺伝子が第3染色体短腕上に存在することが示唆された。遺伝的連鎖解析により 3P25-26にマップされている von Hippel-Lindau 病 (VHL) は高頻度に腎細胞癌を併発することから, その原因遺

伝子が腎細胞癌の癌抑制遺伝子であるとする説もあるが、本研究ではこの領域のみを欠失する症例は無く、共通欠失領域も認められないことから、VHL 遺伝子の機能の喪失は少なくとも非遺伝性腎細胞癌の発生には必須のものではないと考えられた。更に、第3染色体と第8染色体の相互転座を伴う遺伝性腎細胞癌家系の細胞を用いて各マーカーの蛍光 in-situ ハイブリダイゼーションを行い、10cM 離れた2つのマーカーの間に転座点が存在することを確認した。この転座点が3p12-14の共通欠失領域に含まれることから、第3染色体上の癌抑制遺伝子が転座によりその機能を失い、腎細胞癌を発症するとする説を支持する結果となった。

(まとめ)

第3染色体上に正確にマップされた30の RFLP マーカーを用いて40例の非遺伝性腎細胞癌における第3染色体短腕領域の詳細な欠失地図を作製することにより、癌抑制遺伝子が存在すると思われる3p12-14及び3p21.3の2つの共通欠失領域を同定した。更に、蛍光 in-situ ハイブリダイゼーションを用いた遺伝性腎癌家系における染色体相互転座の解析により、第3染色体上の転座点が非遺伝性腎癌における共通欠失領域の一つに含まれることが明らかとなり、転座点に癌抑制遺伝子が存在することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

腎細胞癌をはじめ、肺癌、乳癌、子宮頸癌、卵巣癌、睾丸腫瘍等、いくつかの癌において第3染色体短腕部の高頻度の欠失が見られることから、この領域にこれらの癌の癌抑制遺伝子が存在すると考えられている。しかしながら、第3染色体上の DNA マーカーが少なかったことなどから、未だ癌抑制遺伝子の単離には至っていない。これに対し、本論文では新たに単離し正確にマップした多数の RFLP マーカーを用いて40症例の非遺伝性腎細胞癌における第3染色体短腕部の詳細な欠失地図を作製し、癌抑制遺伝子の存在すると思われる領域をごく小さな範囲に限定することに成功した。

本論文より、1) 腎細胞癌において3p21.3と3p13-p14.3の2箇所に共通欠失領域が存在すること、2) 遺伝性腎細胞癌家系における(3;8)染色体相互転座の第3染色体上の転座点が非遺伝性腎細胞癌における近位の共通欠失領域内に存在すること、等が明かにされ、第3染色体上に少なくとも2つの癌抑制遺伝子が存在し、更に(3;8)相互転座の第3染色体上の転座点に一つの癌抑制遺伝子が存在することが強く示唆された。

本論文より得られた上記知見は、腎細胞癌の発生に深く関与する未知の癌抑制遺伝子を単離するうえで重要なものであり、博士論文としてふさわしいものであると考える。