



Title	Expression of the ret Proto-oncogene in Human Medullary Thyroid Carcinomas and Pheochromocytomas of MEN 2A
Author(s)	宮, 章博
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38561">https://hdl.handle.net/11094/38561</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</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	宮 崎 章 博
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 1 1 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 2 月 25 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	Expression of the <i>ret</i> Proto-oncogene in Human Medullary Thyroid Carcinomas and Pheochromocytomas of MEN 2A (多内分泌腺腫瘍症2A型の甲状腺髄様癌および褐色細胞腫における <i>ret</i> 癌原遺伝子の発現)
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

多内分泌腺腫瘍症2A型(MEN 2A)は甲状腺髄様癌(以下MTC)、褐色細胞腫(以下Pheo)、および副甲状腺腫瘍で構成される疾患である。この原因遺伝子は、多型性DNAマーカーをもちいた連鎖解析によって、10番染色体の動原体付近に同定されている。*ret*癌原遺伝子も、また、この近傍に位置することを連鎖解析を用いてわれわれは証明した。*ret*癌原遺伝子はさまざまなcell lineで発現を調べられたが、neuroblastoma cell lineではほぼ全例で特異的な発現が報告されている。MTCとPheoは、神経芽細胞腫と同様に、神経冠由来の腫瘍であることから、それらにおける*ret*癌原遺伝子の発現の確認、および遺伝子異常の検討を目的として、以下の研究を行った。

### 方 法

- 1) 手術時に摘出した組織を直ちに凍結し保存した。その内訳は12例のMTC(8例はMEN 2A, 4例は非遺伝性)、8例のPheo(6例はMEN 2A, 2例は非遺伝性)である。対照群として、MEN 2A患者から摘出した甲状腺の正常部分や、腎癌患者から摘出した正常副腎を使用した。これらの腫瘍からGuanidium thiocyanate-phenol-chloroform法にてRNAを抽出した。*ret*-II cDNAのkinase domain部分に含まれる0.4kbのcDNAをプローブとして、Northern blot法により*ret*癌原遺伝子の発現を調べた。
- 2) 摘出標本を直ちにmicrowave固定し、保存した。非放射性digoxigenin標識プローブを用いた*in situ* hybridization法で*ret*癌原遺伝子の発現の局在を調べた。
- 3) 摘出標本よりDNAを抽出した。*ret*癌原遺伝子のプロモーター領域やcoding領域のいくつかのcDNAの断片を用いて、Southern blot法で*ret*癌原遺伝子の増幅や大きな構造変化の有無を調べた。

### 成 績

MEN 2A、および非遺伝性の12例のMTC全例で、7.0、6.0、4.5、および3.9kbのmRNAの発現を認めた。甲状腺濾胞腺腫、乳頭癌、未分化癌などでは発現が見られなかった。

Pheoに関しては、8例中6例でMTCの場合と同様の発現が見られた。発現が見られなかった2例はMEN 2A

であったが、5年以上保存されており $\beta$ -actinも変性していたことから mRNA の変性によるものと思われる。旁神経節の1例でも発現が見られた。

Northern blot 法では、MTC の同一患者の甲状腺の正常部分において *ret* 癌原遺伝子の発現が見られなかったが、正常副腎においてかすかながら発現が見られたことから、MTC の由来となる C-cell, Pheo の由来となる髄質細胞の数の問題によるのかもしれないと考えられた。

MTC は CEA 産生腫瘍であることが知られているので、microwave 固定した標本を用いて、まず抗 CEA 抗体で免疫染色を行い、髄様癌の腫瘍部分を調べた。さらに、これに隣接する切片を用いて *in situ* hybridization を行ったところ、細胞質に *ret* 癌原遺伝子の発現が認められる部位が存在し、これは CEA で染色された部位と一致した。非特異的プローブでは反応しなかったことから、*ret* 癌原遺伝子の発現の局在を確認した。

プロモーター領域や coding 領域のいくつかの cDNA の断片を用いて Southern blot 法を行ったが、遺伝子の増幅や再構成は見られなかった。

#### 総 括

本研究の結果、NEM 2A を含む MTC や Pheo での *ret* 癌原遺伝子の発現を確認した。特にヒトの腫瘍における *ret* 癌原遺伝子の発現の *in situ* hybridization による報告は初めてである。

*ret* 癌原遺伝子は neuroectoderm 由来の細胞の分化に重要な役割を果たすものと推測され、*ret* 癌原遺伝子の異常が MTC や Pheo の発生に関与する可能性を示唆した。

MTC や Pheo について *ret* 癌原遺伝子のプロモーター領域や coding 領域のいくつかの cDNA 断片を用いて Southern blot 法を行ったが、遺伝子の増幅や大きな構造変化は見られなかった。したがって、*ret* 癌原遺伝子の異常がこれらの腫瘍の発生に関与するとすれば、もっと小さな欠失やあるいは点突然変異などの異常によると推測される。

### 論文審査の結果の要旨

*ret* 癌原遺伝子は、10番染色体長腕の動原体付近の MEN 2A 座位近傍に位置することが連鎖解析によって確かめられている。本研究ではこの *ret* 癌原遺伝子に着目し、MEN 2A（多内分泌腺腫瘍症2A型）への関与を調べた。*ret* 癌原遺伝子が、MEN 2A の構成腫瘍である甲状腺髄様癌、褐色細胞種で特異的に発現していることを明らかにした。プロモーター領域を含めて *ret* 癌原遺伝子の大きな構造変化や増幅は見られなかった。*in situ* hybridization 法を用いたところ、甲状腺髄様癌における *ret* mRNA は腫瘍細胞にのみ認められ、濾胞上皮細胞には認められなかった。これらの結果は、*ret* 癌原遺伝子が分化あるいは増殖に重要な役割を果たしていることを示唆しており、この後の MEN 2A における *ret* 癌原遺伝子の変異の有無の解明につながる重要な知見となったことから、本研究は学位に値するものと認める。