



Title	Frequent loss of heterozygosity at telomeric loci on 22q in sporadic colorectal cancers
Author(s)	梁, 幾勇
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38969">https://hdl.handle.net/11094/38969</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">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	梁幾 勇
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11781号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Frequent loss of heterozygosity at telomeric loci on 22q in sporadic colorectal cancers (ヒト進行大腸癌における第22番染色体長腕上の共通欠失領域の限定)
論文審査委員	(主査) 教授 高井新一郎
	(副査) 教授 門田 守人 教授 早川 徹

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

ヒト22番染色体長腕(22q)では、進行大腸癌のおよそ30%に欠失が認められることが報告してきた。これは、同染色体上に新たな癌抑制遺伝子の存在を疑わせる事実である。最近、この22qより神経線維腫症2型(NF2)の原因遺伝子が同定され、NF2腫瘍のみならず、髓膜腫、乳癌、さらにはこの大腸癌等も含め広く関与する可能性が考えられている。しかしながら、これまでのところ大腸癌では、このNF2遺伝子変異は、ほとんど同定されておらず、22q上には、大腸癌に関与する別の癌抑制遺伝子の存在する可能性が残されている。本研究では、進行大腸癌において、22番染色体上の詳細な欠失地図を作製し、この大腸癌に関与する癌抑制遺伝子の存在する座位を限定することを目的とした。

#### 【方法ならびに成績】

##### 1) 対象

ヒト進行大腸癌68例を対象とした。手術時に得られた腫瘍組織および正常大腸粘膜より高分子DNAを抽出した。

##### 2) サザンハイブリダイゼーション

各々の高分子DNA 5 μg当量を各種の制限酵素にて切断(消化)、0.8~0.1%アガロースゲルにて電気泳動したのちナイロンメンブレンにトランスファーした。次にあらかじめランダムプライマー法により<sup>32</sup>Pで標識した22q上の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施行し、ヘテロ接合性の消失(LOH: loss of heterozygosity)の有無を検討した。

##### 3) DNAマーカー

ヒト22番染色体長腕上の16種類のRFLPマーカーを用いた。うち2種類は我々の教室において新たに単離、マップしたコスマミドマーカーである。

##### 4) デンシティメトリーによるLOHの判定

オートラジオグラム上の多型性バンドのシグナル濃度をデンシティメトリーにより測定し、正常組織におけるバンドに比較し、50%未満に減少している場合にLOH陽性と判定した。

5) LOHの認められた症例と癌の進行度とにおける、統計的な相関を、Spearman順位相関係数、Fisher's exact testを用いて評価した。

### 【成績】

68例の大腸癌に対して RFLP 解析を施行し、全例につき少なくとも 2 種類のマーカーで情報が得られた（ヘテロ接合性を示した）。これらの全情報を集計し、さらに欠失の認められた症例をもとに 22q 上の詳細な欠失地図を作製して検討し、以下の結果を得た。

- 1) 40例 (59%) は、少なくとも 2 つの座位でヘテロ接合性が保たれており、LOH は認められなかった。
- 2) 28例 (41%) に LOH が認められた。このうち 9 例は情報の得られたすべての座位において LOH 陽性であったため、22q の monosomy と考えられた。  
また、残りの 19 例については、22q の部分欠失と考えられ、それらの共通欠失領域として、22q 遠位側の D22S87～D22S94 (以下 SRO と称す) が限定し得た。
- 3) さらに、この SRO に欠失を認めた症例と Dukes 分類、およびリンパ節転移の有無について、統計学的に非常に有意な相関 (それぞれ、Spearman 順位相関係数 : 0.463,  $p < 0.01$ , Fisher's exact test :  $p = 0.0032$ ) を得た。

### 【総括】

68例の進行大腸癌に対し、16種類のマーカーを使用してサザン法による RFLP 解析を施行した。そのうえで 22q 上の LOH の有無を判定し、詳細な欠失地図を作製した。

68例のうち 28 例 (41%) に LOH を認め、うち 9 例は 22q monosomy, 19 例は 22q の部分欠失と考えられた。これらの情報をもとに欠失地図を作製したところ、D22S87～D22S94 に共通欠失部位が限定できた。さらにこの部位に欠失を示す症例と癌の進行度とは非常に高い相関を示すことが確認できた。以上の結果より、22q の遠位側には、大腸癌の発育進展に関与する、新たな癌抑制遺伝子の存在する可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、大腸癌の発生・進展に関する癌抑制遺伝子が、ヒト 22 番染色体長腕 (22q) 上に存在するかどうかを検討し、また存在するなら、その局在を限定する目的で行なわれたものである。

同染色体上の 16 種類の多型性マーカーを用いて、68 例の進行大腸癌における詳細な欠失地図を作製した結果、共通する最小欠失領域が 22q 遠位側の D22S87 と S94 の座位の間に限定された。この部位は既に同腕上で同定されている神経線維腫症 2 型 (NF 2) の原因となる癌抑制遺伝子座とは異なっており、大腸癌には NF 2 遺伝子とは別の新たな癌抑制遺伝子が関与しているものと考えられた。さらにこの領域における変異 (欠失) と個々の症例における Dukes 分類との間に有意な相関が認められたことより、同遺伝子の不活性化は大腸癌の発生よりも、むしろ発育・進展に関与すると推測された。

本研究により得られた知見は、大腸癌の発育・進展を分子レベルで解明する上で重要であり、今後の遺伝子単離に向けて貴重な情報も与えている。この点において、本研究は学位に値するものと考えられる。