



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	https://hdl.handle.net/11094/38969
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	やな 梁 いく 幾 お 勇
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 7 8 1 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されてきた。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、髄膜腫、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 μ g 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³²p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、マップしたコスミドマーカーである。

4) デンシトメトリーによる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トメトリーにより測定し、正常組織におけるバンドと比較し、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・進展に関与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（NF2）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NF2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。