The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	DELETION MAPPING OF THE LONG ARM OF CHROMOSOME 22 IN HUMAN MENINGIOMAS
Author(s)	赤木, 謙三
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39400
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

【 61 】

氏　　　　名	赤(あか)　木(ぎ)　謙(けん)　三(ぞう)
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学 位 記 番 号	第　11653　号
学位授与年月日	平成7年2月2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	DELETION MAPPING OF THE LONG ARM OF CHROMOSOME 22 IN HUMAN MENINGIOMAS （ヒト髄膜腫における第22番染色体長腕上の染色体欠失地図の作製）
論文審査委員	（主査） 教 授 門田 守人 （副査） 教 授 高井新一郎　教 授 早川 徹

論 文 内 容 の 要 旨

［目　的］

ヒト髄膜腫では，DNA マーカーを用いた解析で，第22染色体長腕（22q）の染色体欠失が高頻度に認められ，同染色体長腕上にはこの腫瘍の発生に関係した癌抑制遺伝子が存在するものと考えられている。最近，22q12領域より神経線維腫症2型（NF2）の原因遺伝子が単離され，髄膜腫においても同遺伝子の微小変異が明らかにされた。しかしながら，一部の髄膜腫においては22qの広範な欠失をきたしているにもかかわらず，NF2遺伝子の変異が認められないものもあり，22q 上に NF2以外に別の癌抑制遺伝子が存在する可能性が残されている。そこで，髄膜腫における22q の欠失領域を再検討し，別の癌抑制遺伝子が存在する可能性があるのかどうか，また，存在するのであればその領域を限定することを目的として，22q 上の詳細な欠失地図を作製した。

［方　法］

1）対象

ヒト髄膜腫46例を対象とした。まず手術時に得られた腫瘍組織および末梢血リンパ球より高分子量 DNA を抽出した。

2）サザンハイブリダイゼーション

DNA 5 μg を各種制限酵素で切断，0.8％アガロースゲルにて電気泳動後，サザン法にてナイロンメンブレンにトランスファーした。そして，ランダムプライマー法により ^{32}P で標識した22q 上の RFLP マーカーをプローブとして用い，ヘテロ接合性の消失（LOH : loss of heterozygosity）の有無や遺伝子再構成を検討した。

3）DNA マーカー

22番染色体長腕上の20種類の RFLP マーカーを用いた。うち13種類はすでに22q 上にマップされた既存のDNAマーカーで，あと7種類は我々が新たに単離，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をデンシトメリーにて測定し，腫瘍のシグナル強度が対応するリンパ球の強

度に比較して50％未満に減少している場合をLOHと判定した。さらに22qの部分欠失を認めもののうち6例に関して，ヘテロ接合性を示さなかった重要な座位では，ホモとなったシグナルの強度をデンシトメトリーで測定し欠失の有無を推定した。すなわち，同一フィルターをコントロールプローブ（OS－4あるいはMEN203）でハイブリダイズし，用いたDNA量とトランスファーの均一性の補正を行なった。腫瘍とリンパ球のDNAの比が0.6以下の場合，片方のアリルが欠失しているものと判断した。

〔成　績〕

46例の髄膜腫に対してRFLP解析を行なった。全例，20種類のRFLPマーカーのうち少なくとも3種類で情報が得られた。これらの情報より22q上の詳細な染色体欠失地図を作製し，以下の結果を得た。

1）17例（37％）は少なくとも3つの座位でヘテロ接合性は保たれ，LOHは認められなかった。

2）29例（63％）でLOHが認められた。

A）うち16例（35％）では情報の得られたすべての座位でLOHを認め，これらの症例での腫瘍組織では22番染色体の片方の染色体1本が欠失しているものと考えられた。

B）残りの13例（28％）では22qの部分欠失，すなわち，9例に遠位側の欠失，3例に近位側の欠失，1例に中間欠失が認められた。症例33と36で認められた遠位側及び近位側の欠失はD22S102で境界され，両腫瘍は異なる領域を欠失していた。

また，全例，今回使用した22q上のどのDNAマーカーにおいても遺伝子の再構成や両側アリルの欠失は認めなかった。

〔総　括〕

46例の髄膜腫に対して，22q上のLOHの有無をサザン法にて解析し，詳細な染色体欠失地図を作製した。29例（63％）に22番染色体の片方のアリルの欠失が認められた。そのうち16例（35％）は片方の染色体1本が欠失しているものと考えられ，残りの13例（28％）は種々のパターンの部分欠失が認められた。そしてこの13例の腫瘍で特記すべきことは，

1）1例（症例36）を除き全例でNF2領域の欠失が認められ，

2）1例（症例33）を除きNF2領域からより遠位側のD22S102とcHKAD－110の間の領域で欠失が認められたことである。すなわち，症例33と36では22q上で異なる領域の欠失がみられ，「同一の癌抑制遺伝子の不活化」による腫瘍化では説明できない現象で，NF2領域からより遠位側に別の癌抑制遺伝子が存在することが示唆された。そしてその癌抑制遺伝子はD22S102より遠位側に存在するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は，ヒト髄膜腫について，RFLP解析法を用いて第22番染色体長腕の詳細な染色体欠失地図を作製することにより，この腫瘍の発生に関与する癌抑制遺伝子の存在領域を限定しようとしたものである。その結果，すでに髄膜腫において微小変異が明らかにされている神経線維腫症2型（NF2）の原因遺伝子より遠位側にのみ欠失を有する腫瘍が認められ，さらにNF2遺伝子を欠失している腫瘍の大部分は，より遠位部も同時に失っていることが明らかとなった。このことより，22番染色体長腕遠位部には，NF2遺伝子とは別の新たな癌抑制遺伝子が存在しているものと考えられ，髄膜腫の発生にはこの癌抑制遺伝子の不活化も必要であるものと推測された。本研究により得られた知見は，今後，同染色体上の癌抑制遺伝子の失活と腫瘍発生のメカニズムを解明する上で重要であり，本研究は学位に値するものと考えられる。