Osaka University Knowledge Archive

Title	Immunohistochemical study of retinoblastoma gene expression in colorectal carcinomas.
Author(s)	福田, 和弘
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39679
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 42 】

氏　　名	福　田　和　弘（ふく　だ　かず　ひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　12102　号
学位授与年月日	平成7年10月4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	Immunohistochemical study of retinoblastoma gene expression in colorectal carcinomas. （大腸癌におけるRB遺伝子産物発現の免疫組織学的検討）
論文審査委員	（主査） 教授　門田　守人 （副査） 教授　髙井新一郎　　教授　青笹　克之

論文内容の要旨

【目　的】

RB遺伝子は網膜芽細胞腫の原因遺伝子として最初に単離された癌抑制遺伝子である。RB遺伝子は網膜芽細胞腫以外にも骨肉腫，腎癌，前立腺癌，肺癌等で高率に遺伝子欠失しており，これらの腫瘍の発生に関与する遺伝子として注目されている。近年，大腸癌においてもRB遺伝子の変化が調べられたが，大腸癌では，他の悪性腫瘍とは異なり，DNA増幅や転写亢進が起こっていることが分かった。本研究は大腸癌におけるRB遺伝子産物（pRB）の発現を免疫組織学的に検討するとともに，Western blotting でその蛋白のリン酸化の程度を調べ，大腸癌におけるRB遺伝子発現の意義について検討したものである。

【方　法】

大腸癌48例を対象とした，pRBのコントロールには，網膜芽細胞腫細胞株Y79と大腸癌細胞株LoVoを用いた，増殖期のY79とLoVo細胞をサイトスピン法によりスライドグラス上に付着させ，4℃中性緩衝ホルマリンで1時間固定した。また大腸癌新鮮切除標本を4℃中性緩衝ホルマリンで24時間固定後，パラフィンブロックとし，4μmの連続切片を作製した。これらの細胞株および組織切片を対象に2種類の抗RBモノクローナル抗体（PMG3－245，2A8）による免疫染色（ABC法）を施行した。さらに細胞株と大腸癌新鮮切除標本より採取した癌組織および正常粘膜のそれぞれから蛋白を抽出し，前記の抗体による Western blotting を施行した。

【成　績】

免疫染色：pRBはRB遺伝子が欠失している網膜芽細胞腫細胞株Y79では検出されなかったが，大腸癌細胞株LoVoでは核に限局して検出された。2種類の抗RBモノクローナル抗体PMC3－245，2A8は同等の染色性を示した。pRBは大腸癌48例全例で核に限局して検出された。癌組織近傍の正常上皮では腺頸部の吸収細胞や粘膜下リンパ濾胞の胚中心リンパ球の核に検出された。大腸癌48例についてpRB染色陽性の癌細胞の比率にしたがってgroup a：＞50％，group b：10－50％，group c：＜10％に分類すると，73％の症例がa，bに分類された。この染色率と臨床病理学的因子との相関を検討したところ，分化型腺癌で，group aに属するものが多かった。Western blot：LoVoでは110

－115kDの位置にpRBが検出されたがY79では全く検出されなかった。癌組織，正常粘膜共にpRBが検出されたが，癌組織におけるpRBは正常粘膜に較べ強く発現し，またその分子量は115kDに近い高リン酸化型が主体を占めた。免疫染色でgroup a, group bに分類された例では，Western blotting でもgroup cに分類された例に較べ強いpRBの発現がみられた。

【総　括】

大腸癌におけるRB遺伝子の発現を蛋白レベルで検討した。pRBは大腸癌の高・中分化型腺癌において過剰発現がみられた。pRBの機能は細胞周期の制御であり，その制御能はpRBが細胞周期依存性にリン酸化をうけて調整されていることが知られている。高・中分化型癌で過剰発現しているpRBは，リン酸化を受け細胞周期制御能を喪失している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は，大腸癌組織におけるRB遺伝子産物の発現を免疫組織学的手法と Western blotting の手法を用いて解析しRB遺伝子の大腸癌の発生進展への関与を検討したものである。その結果，RB遺伝子産物は大腸癌の72.9％において正常大腸粘膜と比較して過剰発現しており，組織型では高・中分化型腺癌でその頻度の高い傾向があった。正常大腸粘膜のRB遺伝子産物は低分子量のものが優位であったが，大腸癌組織では高分子量のものが主体であり，りん酸化を受け細胞周期制御能を失った不活性型が過剰発現している可能性が示唆された。本研究は大腸癌において細胞周期制御機構に異常が起こっていることを示唆し，癌抑制遺伝子としてのRB遺伝子の機能と，RB遺伝子産物の細胞周期制御能の大腸癌の発生，進展への作用機序を解明する上で重要な示唆を与えており，学位に値するものと考えられる。