The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cloning and tissue expression of cDNAs from chromosome 5q21-22 which is frequently deleted in advanced lung cancer
Author(s)	上野, 清伸
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40913
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

【 80 】

氏　　名	上野清伸（うえの きよのぶ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　13576　号
学位授与年月日	平成10年3月9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	Cloning and tissue expression of cDNAs from chromosome 5q21-22 which is frequently deleted in advanced lung cancer **(進行性肺癌で高頻度に欠失の見られる染色体5番長腕21-22領域よりの候補癌抑制遺伝子の単離)**
論文審査委員	(主査) 教授　岸本　忠三 (副査) 教授　吉崎　和幸　　教授　荻原　俊男

論文内容の要旨

(目的)

肺癌，特に小細胞肺癌は，初期の化学療法や放射線療法に比較的よく反応するものの，徐々に治療抵抗性や悪性度を増し，再度の治療にもかかわらず患者を死に至らしめる悪性腫瘍である。この治療抵抗性や悪性度獲得のメカニズムを解明することは，肺癌を治療する上で，特に重要な事と考える。肺癌に広く共通してみられる異常として，*myc* 族，*ras* 族等の癌遺伝子の活性化に加え，染色体3番短腕の欠失や，癌抑制遺伝子である *p53*，*Rb* 等の不活化が知られている。しかし，これらの変化はすでに早期肺癌や前癌状態でも認められることより，癌の発生に関与し，後天的に獲得する治療抵抗性や悪性度とは直接関わりが少ないと想像される。そこで，早期肺癌と進行性肺癌のゲノムDNAの変化を比較し，進行性肺癌でより高頻度に変化のみられる領域を同定し，治療抵抗性や悪性度獲得に関与する遺伝子を単離する事を試みた。

(方法ならびに成績)

1．DNA多型マーカーを用いたLOH（loss of heterozygosity）法により多数の肺癌症例における染色体欠失を検索した。その結果，染色体5番長腕の欠失が，早期肺癌に比べ進行肺癌において，より高頻度に認められた。多数の肺癌症例を用いた欠失地図の作成により，共通欠失領域は染色体5番長腕上21-22（5q21-22）の領域と考えられた。すなわち同部位に，肺癌の治療抵抗性や悪性度獲得に関与する遺伝子の存在が示唆された。

2．肺癌症例において最も高頻度に欠失の見られたDNA多型マーカー，D5S81の一部の塩基配列を決定し，プライマー設定後，PCR法により5q21-22に存在する人工酵母染色体（YAC）を単離した。得られたYACの両端の塩基配列より，さらに他のYACを単離するという染色体歩行を繰り返し，5q21-22の共通欠失領域を含む約8MbのゲノムDNAを，11個のYACクローンでカバーした。また一部のYACよりコスミドライブラリーを作成し，6個のコスミドコンティグを作成した。これらを用い，ノーザンブロット法，エクソントラッピング法，ズーブロット法，ダイレクトセレクション法，そしてDNAデーターベースの検索により同部位より35個のエクソン様断片を単離した。これらの断片を用い，数種のcDNAライブラリーをスクリーニングしたところ，計14種のcDNAが単離された。そ

れぞれの部分的塩基配列より，2種類は既知の遺伝子，12種は新しい遺伝子と考えられた。

3．既知の遺伝子はgeranylgeranyl transferase Iと，cysteine dioxygenase Iであった。geranylgeranyl transferase Iは，Rasと拮抗すると考えられているKrev-1のシグナル伝達に必要な酵素である。すなわち，この酵素の発現が低下すると，Rasのシグナル伝達の抑制がはずれる可能性があると考えられた。

4．未知の12種のcDNAのうち2種類は，28S rRNA geneおよび，semaphorin CD100をはじめとするsemaphorin familyと部分的に相同性を示した。既知のsemaphorin familyに属する遺伝子のうち，semaphorin IV，Vは肺癌で高頻度に欠失している3p21.3領域より単離された遺伝子で，候補癌抑制遺伝子の1つと考えられている。他の10種類のcDNAにおいては，既知の遺伝子との明らかな相同性を認めなかった。

5．また，すでに5q21-22に存在すると考えられている遺伝子のうち，APC, MCC, FER, U2AF1-RS1の4種は，我々が作成したYACコンティグ内にマップされた。APC遺伝子は，家族性大腸ポリポーシスの原因遺伝子で，大腸癌や胃癌，膵癌において異常が見られるが，現在までの報告では，肺癌での異常は見つかっていない。U2AF1-RS1はゲノム刷り込み遺伝子である。肺癌において，すでにゲノム刷り込み遺伝子であるinsulin like growth factor IIや，H19の異常が報告されており，肺癌の発生，進展にゲノム刷り込み遺伝子の異常が関与している可能性がある。

(総括)

染色体5q21-22領域に肺癌の悪性度，治療抵抗性に関与する癌抑制遺伝子の存在が示唆された。進行性肺癌における5q21-22の共通欠失領域は約6-8Mbと考えられ，この部位を11個のYACクローンにてすべてカバーした。また，この領域より14種のcDNAが単離された。

論文審査の結果の要旨

この研究は，肺癌の治療抵抗性や悪性度獲得に関与する遺伝子の単離を目的としたものである。まず，早期肺癌と進行性肺癌とのゲノムDNAの変化を比較することにより，染色体5番長腕(5q)の欠失が早期肺癌に比べ進行性肺癌で高頻度に認められることを示した。多数の肺癌症例を用いた欠失地図の作成により共通欠失領域は5q21-22と考えられ，同部に肺癌の治療抵抗性や悪性度獲得に関与する遺伝子の存在する可能性を示した。さらにこの領域を11個の人工酵母染色体（YAC）でカバーした。ここより，エクソントラッピング法，ズーブロット法などを用い14種類のcDNAを単離した。またすでに5q21-22領域に存在の確認されているAPC, MCC, FER, U2AF1-RS1も今回作成されたYACコンティグ内にマップされることを示した。これらのcDNAのうちの一部は，想像される機能より候補癌抑制遺伝子であると考えられた。以上のことより本研究は学位に値すると思われる。