



Title	Maintenance of imprinting of the insulin-like growth factor II gene (IGF2) and the small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N gene (SNRPN) in the human uterus and leiomyoma
Author(s)	橋本, 一昌
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40981
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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	橋本一昌
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 13441 号
学位授与年月日	平成 9 年 11 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	Maintenance of imprinting of the insulin-like growth factor II gene (IGF2) and the small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N gene (SNRPN) in the human uterus and leiomyoma (子宮平滑筋・平滑筋腫における IGF2, SNRPN 遺伝子のアレル特異的発現)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 雄二 (副査) 教授 岡田伸太郎 教授 辻本 賀英

論文内容の要旨

[目的]

インプリント遺伝子は、父親由来・母親由来のどちらか一方のアレルのみが発現し、他方の発現は抑制される様に調節されているが、いくつかの悪性腫瘍でゲノムインプリンティングの異常が報告されている。ウイلمス腫瘍では、刷り込みの消失 (loss of imprinting, LOI) に伴い、ヒトインプリント遺伝子のうち、腫瘍抑制作用を持つ H19 遺伝子の著明な発現低下や、insulin-like growth factor II (IGF2) の過剰発現が認められ、LOI と腫瘍発生との関連が示唆されている。IGF2 は父親由来のアレルのみが発現し母親由来のアレルは発現が抑制され、反対に H19 遺伝子は、母親由来のアレルのみが発現し父親由来のアレルは発現が抑制されている。これらの逆に刷り込まれた両遺伝子は、第 11 番染色体上で非常に近接して存在し、協調的に制御されて胚発生や胎児発育に重要な役割を果たしていると考えられている。

ヒトの子宮平滑筋腫・平滑筋肉腫などの子宮平滑筋腫瘍では、IGF2 が過剰発現し、IGF2 が腫瘍増殖に関与していると考えられている。本研究では、良性子宮平滑筋腫瘍である子宮筋腫を研究対象として、子宮筋腫組織における IGF2 の発現増加が、正常では抑制されているはずの母親由来のアレルが活性化される事に由来するのではないかと仮説を立て、子宮筋腫における LOI の有無について検討した。

一方、small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N 遺伝子 (SNRPN) は、染色体 17 番の長腕、Prader-Willi 症候群 (PWS) の領域にマップされ、胎児の脳・心臓や成人の脳組織で IGF2 と同様に父親由来のアレルが選択的に発現している事が知られている。しかし、子宮筋腫組織を含めた他の組織での発現については十分な検討がなされなかった。そこで、既知の単塩基置換の多型を利用して、Acc II による PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) を確立し、reverse transcription (RT)-PCR によるアレル特異的発現を解析、IGF2 の発現と比較する事により子宮筋・子宮筋腫においてゲノムインプリンティングが総合的に保たれているかどうかを解析した。

[方法ならびに成績]

20例の子宮筋腫切除標本から、正常子宮平滑筋及び計40個の子宮筋腫核組織を採取した。ゲノム DNA 及び総 RNA を抽出し、PCR-RFLP 法と RT-PCR 法を用いて IGF2 遺伝子の発現解析を行った。既知の exon 9 領域の Apa I RFLP 部位について PCR 法で遺伝子を増幅し、制限酵素消化を行いアガロースゲル上で電気泳動を行ないヘテロ接合性の有無を検討した。ヘテロ接合性の認められた 9 例から得られた RNA から、逆転写酵素を用いて cDNA を合成し、ゲノム DNA の場合と同様に PCR 法で遺伝子を増幅した。制限酵素消化の後、アガロースゲル電気泳動で発現アレルの解析を行った結果、9 例から得られた筋腫組織20個すべてに単アレル性の発現が観察され、さらに同一症例内の発現アレルはすべての筋腫核で同一で、子宮筋組織の発現アレルと一致していた。

続いて、同一標本を用いて、SNRPN 遺伝子の exon 2 内の単塩基多型部位を含む領域を増幅し、IGF2と同様に PCR-RFLP 解析を行った。理論上、SNRPN 遺伝子の単塩基多型は Acc II RFLP で認識されるが、予想通り20例中9例にヘテロ接合性が認められた。この RFLP を利用して、RT-PCR で発現アレルの解析を行ったところ、IGF2と同様に9例27個の筋腫組織すべてにおいて SNRPN は単アレル性に発現しており、子宮筋組織でも同じアレルが発現していた。

[総括]

子宮筋腫は、子宮平滑筋から単クローン性に多発発生する良性腫瘍である。本研究により、それぞれの筋腫核は独立に発生するにも関わらず、正常子宮筋・子宮筋腫ともに IGF2 の刷り込みが保たれていることが明らかとなった。子宮筋腫における IGF2 の発現増加は、LOI によるものではなくおそらくプロモーターなどの発現調節領域の変化により規定されていると考えられた。

本研究では、SNRPN 遺伝子における RFLP を確立し、それを用いてヒト子宮筋・子宮筋腫組織で SNRPN がインプリントされていることが証明された。この方法を用いることにより、PWS や腫瘍などの他の疾患におけるゲノムインプリンティング研究が発展することが期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究の結果、正常子宮筋・子宮平滑筋腫において IGF2, SNRPN 遺伝子ともに単アレル性に発現しており、ゲノムインプリンティングが保たれていることが明らかとなり、この腫瘍におけるインプリント遺伝子の発現調節機構の一端が解明された。加えて本研究では、SNRPN 遺伝子において PCR を用いた制限酵素多型が確立された。この方法を将来他の疾患や腫瘍に応用することにより、ゲノムインプリンティングを容易に解析することが可能となった。従って、ゲノムインプリンティング研究が発展することが期待されるため、本研究は、学位を授与されるに値するものと考えられる。