

Title	Frequent loss of expression or aberrant alternative splicing of P2XM, a p53-inducible gene, in soft-tissue tumours
Author(s)	名和, 巖
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41811
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 こちら 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	名 和 厳
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 3 1 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Frequent loss of expression or aberrant alternative splicing of P 2 XM, a p53-inducible gene, in soft-tissue tumours (軟部腫瘍における p53 誘導遺伝子 P 2 XM の発現異常)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 秀樹 (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 越智 隆弘

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

乳癌や大腸癌をはじめとする悪性固形腫瘍の場合と同様に、多様な組織型を有する軟部肉腫においても p53 の変異や p53 阻害作用をもつ mdm 2 の過剰発現が諸家により報告されている。p53 はその下流に位置する種々の遺伝子群の発現の誘導を介して様々な生物学的作用を行っているが、p53 変異や mdm 2 過剰発現により生じた正常な p53 の作用阻害が軟部肉腫の発生過程にどのように関与しているのかは明らかではない。P 2 XM は p53 の下流に位置し p53 に誘導される筋肉特異的遺伝子のひとつであり、ATP 結合性イオンチャンネル遺伝子群 P 2 X ファミリーに属している。P 2 X ファミリーはアポトーシスに関与する可能性が示されており、また骨軟部腫瘍の培養細胞系において P 2 XM の発現異常（発現低下およびスプライシングバリエントの異常発現）が指摘されていることから P 2 XM は軟部腫瘍の発生に重要な役割を果たしている可能性がある（Urano et al, 1997）本研究では P 2 XM に注目し、P 2 XM 発現異常が軟部腫瘍においてどの程度の頻度で認められるかまた P 2 XM 発現異常と p53 変異／mdm 2 過剰発現に相関があるのかを RT-PCR および SSCP 法を用いて検討することを目的とした。

【方法】

(1)患者および組織：大阪大学および大阪府立成人病センターで外科的治療を受けた軟部腫瘍患者56例を対象とした（悪性軟部肉腫47例、良性軟部腫瘍9例）(2)P 2 XM および mdm 2 に対する RT-PCR：組織より抽出された RNA より cDNA を合成し、適宜設計したプライマーを用いて正常筋肉組織を基準とする半定量的 PCR を行った。P 2 XM については3つのスプライシングバリエント（AL1、AL2、AL3）の発現強度を正常筋肉組織を基準にして検討した。(3)p53-SSCP：組織より抽出された DNA を用いて Exon 5-8 についてアクリルアミドゲルによる PCR-SSCP を行った。泳動後のアクリルアミドゲルは蛍光色素（SYBR GREEN II）により染色後、蛍光イメージアナライザー（FMBIO II）を用いて解析、異常バンドを切り出しシーケンス解析をおこなった。

【成績】

(1)P 2 XM 発現異常：軟部腫瘍56例中41例（発現低下16例、AL1 または AL2 の発現増強25例）、悪性軟部肉腫47例中34例（発現低下12例、AL1 または AL2 の発現増強22例）に認められた。良性／悪性の違い、組織型の違いによる P 2 XM 発現異常頻度の差異は認められなかった。(2)p53変異と mdm 2 過剰発現：p53変異は56例中8例に、mdm 2 過剰発現は5例にみとめられた。これら p53変異／mdm 2 過剰発現を認める13例のうち P 2 XM 発現異常のあった

ものは10例で、P2XM 発現異常と p53変異/mdm2 過剰発現の間には有意な相関は認められなかった。

【総括】

(1)軟部腫瘍のほぼ4分の3と、高頻度にP2XMの発現異常が認められた。このことから軟部腫瘍の発生とP2XM 発現異常との間には密接な関連が示唆された。またP2XM 発現異常と軟部腫瘍の良性/悪性、組織型の違いには相関がないことからP2XM 発現異常は軟部腫瘍共通の腫瘍発生メカニズムに関与している可能性が考えられた。

(2)P2XM 発現異常の認められた41例のうち p53変異/mdm2 過剰発現が認められたものはほぼ4分の1であり、これらの例では p53変異/mdm2 過剰発現により wild-type p53が抑制された結果としてP2XM 発現異常が生じたものと考えられた。また残りのほぼ4分の3では、p53変異/mdm2 過剰発現が認められなかった。このことから p53以外のP2XM 制御メカニズムの存在が推察された。

論文審査の結果の要旨

p53は悪性腫瘍の発生においてきわめて重要な働きを持った遺伝子であり、現在各方面で p53関連遺伝子の研究・解析が進められているが未だその全容は解明されていない。本研究では p53により誘導され筋肉特異的に発現する P2XM 遺伝子に注目し、P2XM 発現異常が軟部腫瘍においてどの程度の頻度で認められるかまた P2XM 発現異常と p53の変異/mdm2 の過剰発現に相関があるのかを RT-PCR および SSCP 法を用いて検討した。その結果軟部腫瘍のほぼ4分の3と、高頻度にP2XMの発現異常が認められ、P2XMの発現異常が何らかの形で軟部腫瘍の発生に関与していることが示された。これらの結果により軟部腫瘍のメカニズムにつき一つの新しい可能性が示唆された点で本研究は重要であり、医学博士の学位授与に値する研究であると考えられる。