



Title	The WT 1 Gene Expression in Human Testicular Germ Cell Tumors
Author(s)	原田, 泰規
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41861
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	原 田 泰 規
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 5 3 1 9 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	The WT 1 Gene Expression in Human Testicular Germ Cell Tumors (ヒト精巣胚細胞腫瘍における WT 1 遺伝子の発現)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 西宗 義武 教授 青笹 克之

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

WT 1 遺伝子は Wilms 腫瘍の責任遺伝子の一つとしてクローニングされた癌抑制遺伝子であり、本腫瘍の約10%に遺伝子異常が認められる。本遺伝子は第11番染色体短腕に位置し、449個のアミノ酸から成る zinc-finger 構造を有する転写因子である。Rb や p53 のように広範囲の臓器に発現している他の癌抑制遺伝子とは異なり、WT 1 遺伝子は胎生期の腎、卵巣、精巣および脾臓などの臓器に特異的に発現を認め、これら器官の発生や分化に関して重要な役割をもつことが示唆されている。細胞の増殖、癌化に関しては阻害的に働くばかりではなく、最近の研究では、本遺伝子が白血病における腫瘍増殖のプロモーターとなることが判明した。精巣胚細胞腫瘍は多能性幹細胞に由来し、比較的若年者に発症することや抗癌剤による化学療法が良く奏効する点で白血病に類似している。以上より、精巣胚細胞腫瘍においても WT 1 遺伝子はその増殖に何らかの役割を果たしている可能性を考慮し、本研究ではヒト精巣胚細胞腫瘍における WT 1 遺伝子発現の定量化を試み、臨床病理学的特徴との関連性について検討した。

【方法】

対象は高位精巣摘除術で得た原発性精巣胚細胞腫瘍34例であり、その内訳はセミノーマ23例、非セミノーマ11例であり、UICC の TNM 分類による病期は stage I が25例、stage III が2例、stage IV が7例であった。腫瘍部より total RNA を抽出し、以下のように定量的 RT-PCR 法によって WT 1 遺伝子発現量を測定した。total RNA を11段階に希釈しそれらに対し WT 1、 β -actin 各々の RT-PCR を行ない、どちらも exponential amplification のみられる希釈段階での β -actin に対する WT 1 の相対発現量を定量化した。なおヒト精巣胚細胞腫瘍株 NEC 8 における WT 1 相対発現量を1単位とし、これを発現量のカットオフ値に定めた。

パラフィン包埋した精巣摘除標本において抗ヒト WT 1 ポリクローナル抗体を用いて免疫組織染色を施行した。

4 症例の精巣腫瘍部とそれに隣接した正常精巣部で、WT 1 遺伝子の4つの alternative splice variant の発現を RT-PCR 法によって調べた。

【成績】

腫瘍組織における WT 1 mRNA の発現量は0-28.312単位(中央値:0.632単位)と多様であった。カットオフ値以上の症例は low stage 症例(stage I)で20%(5/25例)、high stage 症例(stage III、IV)で66.7%(6/9例)であり、WT 1 遺伝子の発現量と精巣胚細胞腫瘍の病期とは統計学的に有意な相関を認めた($p=0.017$)。また、6

例の進行症例において末梢血液中の腫瘍細胞の検出を RT-PCR 法を用いて試みたが、いずれの症例においても検出し得なかった。

WT 1 遺伝子の免疫組織染色法を用いたタンパクレベルでの発現は WT 1 mRNA が高発現した症例で腫瘍細胞に強く発現しており、WT 1 mRNA が低発現した症例で弱い発現を示した。

4 症例の精巣腫瘍部とそれに隣接した正常精巣部はいずれも 4 つの alternative splice variant すべてを発現しており、腫瘍部あるいは正常部に特異的な WT 1 isoform の発現は認められなかった。

【総括】

精巣胚細胞腫瘍の癌化、進展に関与する既知の癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常について明らかな報告はない。本研究は臨床検体を用いて精巣胚細胞腫瘍における WT 1 mRNA の発現レベルの定量を試みた最初の報告であり、WT 1 mRNA の発現量と精巣胚細胞腫瘍の病期とは統計学的に有意な相関を認めた。このことから WT 1 遺伝子の発現が精巣胚細胞腫瘍の進展に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文では臨床検体を用いて精巣胚細胞腫瘍における WT 1 遺伝子の発現レベルの定量を試み、その発現量と腫瘍病期とが統計学的に有意な相関があることを示している。これまで精巣胚細胞腫瘍の癌化、進展に関与する既知の癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常を明らかにした報告はない。本論文は、従来癌抑制遺伝子とされてきた WT 1 遺伝子が精巣胚細胞腫瘍においてその進展の指標となり得ることを示し、固形腫瘍において WT 1 遺伝子が増殖プロモーターとして機能し得る可能性をはじめて示唆した点で学位に値するものと認める。