

Title	Clonal Nature of Seborrhoeic Keratosis Demonstrated by Using the Polymorphism of the Human Androgen Receptor (HUMARA) Locus as a Marker
Author(s)	中村, ハルミ
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42651
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	中村ハルミ
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16048号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	Clonal Nature of Seborrhoeic Keratosis Demonstrated by Using the Polymorphism of the Human Androgen Receptor (HUMARA) Locus as a Marker 「ヒト・アンドロゲンレセプター (HUMARA) 遺伝子の多様性をマーカーとした脂漏性角化症のクローン性の証明」
論文審査委員	(主査) 教授 北村 幸彦 (副査) 教授 青笹 克之 教授 吉川 邦彦

論文内容の要旨

【目的】

脂漏性角化症 (seborrhoeic keratosis, SK) は、普通にみられるヒトの表皮の良性病変であり、多くは中年以降の体幹や顔面に生じる。組織学的には6タイプに分類されるが、過角化症、乳頭腫症ならびに表皮肥厚が共通した所見である。SKの病因は不明であり、表皮の過形成性の病変であるのか、あるいは新生物であるのかという点についても未だ明らかにされていない。もし、SKが過形成性病変であれば、複数の細胞から生じたポリクローナルな病変であり、一方、新生物であれば、1個の細胞から生じたモノクローナルな病変であることが予想される。クローン性を明らかにすることは、SKの病態を理解をする上で意義深いと考えられ、本研究を実施した。

【方法ならびに成績】

29歳から90歳までの40人の女性患者から44個のSK病変を得た。また、得られたSKには正常の表皮はごくわずしか含まれていなかったため、正常表皮のサンプルが得られたのは5症例のみであった。定法に従って作製された厚さ6 μ mのパラフィン包埋切片にH&E染色を施し、laser capture microdissection (LCM) systemを用いて、顕微鏡下に病変部分を選択的に切り出した。proteinase K溶液中でDNAを抽出し、続いてmethylation感受性の制限酵素であるHhaIによる処理を行った。HUMARA遺伝子はHhaIによって切断される部位を2箇所有するが、この切断はメチル化によって阻害される。父母から1本ずつ受け継いだX染色体のうち、発生初期にランダムにメチル化を受けて不活性化した方のX染色体のHUMARA遺伝子のみが残り、PCRで増幅されることになる。HUMARA遺伝子にはCAGの塩基配列の繰り返し部分が存在する。(CAG)_nと表記すると、2本のX染色体についてn数は85%~90%という高い率の患者でheterozygosityを示す。nの違いによって、PCR産物の分子量に差が生じることから、ABI PRISM™ Genetic Analyzerを用いた解析により、ポリクローナルであればHhaI処理後も2つのピークが得られるのに対し、モノクローナルであればHhaI処理によって1つのピークの消失が観察される。

ピークの消失を正確に測定するために、HhaIで処理したサンプルにおけるピークの比(小さい分子量を持つalleleのピークの高さ/大きい分子量を持つalleleの高さ)をHhaIで処理しないサンプルにおけるピークの比で割ることによってcorrected ratio (CR)を計算した。正常の表皮が対照として得られた5症例については、病変部のCRを正常表皮のCRで割った値であるfinal ratio (FA)が、1.5以上の場合をParadisらの基準に従ってモノクローナルであると判定した。この他のSKについては、CRが10以上の場合を一方のピークの実質的な消失と考えて、モノクローナルであると判定した。

ノクローナルであると判断した。

上記の方法を用いて44病変のSKの解析を行った結果、HUMARA遺伝子のheterozygosityが確認された34人の患者の38個のSKのうち、正常の表皮から対照が得られた5病変は、FAが1.5以上であった。また、21病変（うち1病変は前述の5病変と重複する）ではCRが10以上で、一方のピークの明らかな消失が認められた。したがって、両者を併せた25（ $21 + 5 - 1 = 25$ ）病変がモノクローナルと判断された。残りの13個のSKは、今回の方法ではモノクローナルと断定できなかった。

【総括】

X染色体上のヒト・アンドロゲンレセプター遺伝子に高頻度に多様性があることを利用して、脂漏性角化症のクローン性を解析した。その結果、脂漏性角化症の66%（38病変中25病変）が単一細胞から生じたモノクローナルな病変であった。

論文審査の結果の要旨

脂漏性角化症（Seborrheic keratosis、以下SK）は、加齢とともによく見られる表皮の良性病変であるが、その病因についてはよくわかっていない。

本研究では、X染色体上のヒト・アンドロゲンレセプター遺伝子に高頻度の多型性が存在することを利用して、SKのクローン性を解析した。SKが単一細胞由来の病変であることを初めて明確に証明したのである。40例の女性のうち、34例でアンドロゲンレセプター遺伝子に多型性が見られ、得られた38個のSKのうち25個が単クローン性を示した。

本研究の結果は、脂漏性角化症の今後の病因解明に今後の道標を与えるものであることから、学位に値すると考える。