



Title	Detailed deletion mapping suggests the involvement of a tumor suppressor gene at 17p13.3, distal to p53, in the pathogenesis of lung cancers
Author(s)	小西, 裕之
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43000">https://hdl.handle.net/11094/43000</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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	小 西 裕 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 9 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 9 月 30 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	Detailed deletion mapping suggests the involvement of a tumor suppressor gene at 17p13.3, distal to p53, in the pathogenesis of lung cancers (染色体17p13.3領域に p53遺伝子と独立したがん抑制遺伝子の存在を示唆する肺癌における染色体欠失地図の作成)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 青 笹 克 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目的]

肺癌においては17番染色体短腕が高頻度に欠失しており、その標的がん抑制遺伝子として染色体17p13.1上に存在する p53遺伝子がよく知られている。一方、乳癌、卵巣癌、神経原性腫瘍、肝細胞癌などでは、同領域の欠失範囲の詳細な検討の結果、17p13.1領域以外にさらに遠位側の17p13.3領域にも独立した染色体欠失領域が存在することが報告されている。肺癌における17番染色体短腕の染色体欠失地図の作成を行い、p53遺伝子の変異の有無と照合することによって、同領域に p53以外のがん抑制遺伝子が存在する可能性について検討した。

### [方法]

染色体欠失地図作成にあたっては、100例の原発性肺癌（小細胞癌14、腺癌54、扁平上皮癌28、大細胞癌4）の症例を用いた。それぞれの症例の肺癌組織および対照正常肺組織は手術または剖検の際に収集し、液体窒素によって急速冷凍後、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保管し、その後DNAを抽出した。

染色体欠失地図は、多型性を示すマイクロ及びミニサテライトマーカーを利用して作成した。これを polymerase chain reaction (PCR) で増幅した後、リピートの長さの差を denaturing polyacrylamide gel を用いて検出し、対照正常組織では2本のバンドとして認めるのに対し、肺癌組織では1本のバンドとして認めたものを loss of heterozygosity (LOH) と判断した。ただし肺癌組織への正常組織の混入を考慮し、腫瘍組織における2本のバンドのうち、1本のシグナル強度が対照組織に比べて50%以上の減弱を示した場合に LOH と判定した。

多型性マーカーとしては17p13.3領域の4マーカー、p53遺伝子(17p13.1)領域の2マーカーを含む第17番染色体上の9個のマーカーを使用して染色体欠失地図を作成した。

p53遺伝子の変異は、同遺伝子のエクソン5～エクソン8についてそれぞれPCR-single strand conformation polymorphism を行って検索した。

### [成績]

p53遺伝子領域の欠失を示す症例は小細胞癌92%、腺癌34%、扁平上皮癌61%、大細胞癌33%であったのに対し、17

p13.3領域の欠失はそれぞれ92%、52%、75%、50%の症例に認められた。1例を除く全症例で17p全体に広範なLOHを示す小細胞癌に対し、非小細胞癌では17p13.3領域により高頻度のLOHを認めた。9個のマーカーのうちでは17p13.3領域内にあるD17S5が56%と最も高頻度のLOHを示した。

17p13.3領域の欠失はp53遺伝子の変異やp53遺伝子領域の欠失を持たない症例にも検出されたが、逆に17p13.3領域の欠失のない症例にp53遺伝子の変異やp53遺伝子領域の欠失を検出することは稀であった。

17p13.3領域にp53遺伝子領域と独立した欠失領域を有する症例は27例あった。その共通欠失領域はD17S379とD17S695を境界とする約10 cMに限定された。しかしさらにテロメア側のmarkerであるD17S1866のみのLOHを示す症例が3例存在し、この領域にもう一つの共通欠失領域がある可能性も示唆された。

[総括]

100例の原発性肺癌において第17番染色体の詳細な染色体欠失地図を作成し、従来よりこの染色体上の標的がん抑制遺伝子として知られている17p13.1領域のp53遺伝子以外に、17p13.3領域に別のがん抑制遺伝子が存在する可能性を示した。17p13.3領域の欠失は、p53遺伝子の変異やp53遺伝子領域の欠失のない症例でも認められるため、17p13.3領域のがん抑制遺伝子は肺癌の発生・進展においてp53遺伝子よりも早期の段階で関与していると考えられた。今回同定した共通欠失領域はD17S5を含みセントロメア寄りの部位において、乳癌、卵巣癌の欠失領域と共通している。またテロメア側において各種の神経原性腫瘍の欠失領域とも重なるため、複数の悪性腫瘍に共通のがん抑制遺伝子の存在も考えられた。この領域にはHIC-1、ROX/Mnt、OVCA-1、OVCA-2といった候補癌抑制遺伝子が報告されているが、これらの遺伝子あるいは未知の癌抑制遺伝子が肺癌発症に関与していることを示す結果であり、今後の更なる検討が必要である。

## 論文審査の結果の要旨

肺癌においては17番染色体短腕が高頻度に欠失しており、その標的癌抑制遺伝子はp53遺伝子であると考えられていた。一方数種類の神経腫瘍、乳癌、肝細胞癌、卵巣癌などでは17p13.3領域にp53遺伝子領域と独立した染色体欠失領域が存在することが報告されている。本研究では、肺癌においても17p13.3領域にp53遺伝子領域と独立した欠失領域が存在するか否かを検討する目的で、17番染色体短腕の詳細な染色体欠失地図を作成した。また地図作成に用いた症例のp53遺伝子変異の有無を検討して染色体欠失地図と照合した。

原発性肺癌100例（小細胞癌14例、腺癌54例、扁平上皮癌28例、大細胞癌4例）の肺癌組織および対照正常肺組織から抽出したDNAを用い、17番染色体上の9個のDNAマーカーについてPCRを行って、ヘテロ接合性の消失の有無を検討した。その結果より作成した染色体欠失地図を、PCR-SSCP法で検討したp53遺伝子の変異の有無と照合した。その結果、小細胞癌ではp53領域、17p13.3領域とも92%の症例で欠失しており、17番染色体短腕全体の広範な欠失を示した。しかし非小細胞癌では、p53遺伝子領域の欠失が腺癌34%、扁平上皮癌61%、大細胞癌33%であり、17p13.3領域の欠失はそれぞれ52%、75%、50%であった。またp53領域に欠失のない症例の33%に17p13.3領域の欠失を認め、p53領域に欠失のある症例ではほぼ全例に17p13.3領域の欠失を認めた。また27例の症例でp53領域と独立した17p13.3領域の欠失が存在し、その共通欠失領域はD17S379マーカーとD17S695マーカーの間であった。

これらの結果は17番染色体の欠失が漸進的に拡大していく際に、17p13.3領域がp53領域よりも先行する可能性を示唆し、またD17S379マーカーとD17S695マーカーの間に肺癌における癌抑制遺伝子の存在を示唆するものである。今後同領域の癌抑制遺伝子の同定、その遺伝子の臨床的応用への可能性を示したもので、学位に値すると考えられる。