The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Sequence variants of the Axin gene in hepatoblastoma
Author(s)	繆江, 永
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45375
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　繆（ミャオ）　江（ジャン）　永（ヨン）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学　位　記　番　号　第　18506　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学　位　論　文　名　Sequence variants of the *Axin* gene in hepatoblastoma
（肝芽腫におけるAxin遺伝子の塩基配列変異）

論　文　審　査　委　員　（主査）
教　授　福澤　正洋

（副査）
教　授　青笹　克己　　教　授　金田　安史

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕Wntシグナル伝達は最終的にβ-cateninを通じて下流の遺伝子の転写を活性化するもので、個体発生の過程や、腫瘍発生において重要な役割を担う。Axinは最近発見されたWntシグナル伝達に関わる蛋白であり、Axin内の種々のドメインにおいてその他のWntシグナル関連因子であるadenomatous polyposis coli（APC）、glycogen synthase kinase-3β、β-catenin、protein phosphatase 2Aなどと結合して複合体を形成する。このAxinの機能が抑制されるとβ-cateninの分解が抑制され、結果として蓄積したβ-cateninが核に移行して恒常的な転写活性化をもたらす。小児腫瘍の一つである肝芽腫においては、β-cateninの蓄積に関して同様の効果をもたらすβ-catenin遺伝子自身の活性化変異やAPC遺伝子の機能喪失型の変異が検出されておりWntシグナル異常の腫瘍発生への強い関与が示されているが、これらの遺伝子異常の頻度は67～89%である一方、β-cateninの核への異常集積はほぼ全ての症例に観察される。すなわちβ-cateninやAPC遺伝子以外の因子が関与する症例のあることが考えられる。そこでAxin遺伝子をその候補として、肝芽腫を中心とした小児腫瘍における遺伝子変異を検討した。

〔方法〕合計で102の腫瘍標本（肝芽腫22例、腎腫瘍22例、その他の腫瘍58例）と、これらと関連のない48例の非腫瘍組織を対象とした。それぞれの凍結標本よりDNAを抽出後、Axin遺伝子の変異検索を行った。この際、遺伝子を構成する10個のexon全てとその境界領域を、24の部分に分割して、PCR-SSCP法により検討した。SSCPにより塩基配列異常が疑われた標本については、直接塩基配列決定法にてその詳細を決定した。

〔成績〕まず肝芽腫における検討では、exons 2、5、6、7、10の増幅領域で合計12の1塩基配列変化を確認した。このうち4つはintrons 2、5、10に存在するもので polymorphism と考えられた。その他のうち7つの変化はexons 2、6、7内にあるcodons 31、111、291、526、563、573、647に起ったものであるがアミノ酸変化はもたらさず、polymorphism と考えられた。しかし最後のcodon 95（ACG->ATG）に見られたものはThr->Metへのアミノ酸の変化をもたらす missense 変異であり一例のみに観察された。この症例の非腫瘍組織の検討も行ったが同様の変異が認められ、Thr95Metはgerm-line変異として存在することが確かめられた。またこの症例の腫瘍ではβ-catenin遺伝子変異も合併していた。

肝芽腫以外の 80 例の腫瘍についての検索では、合計で 10 種類の１塩基配列の変化が確認された。このうち９種（intron 内４種、exon 内５種）のものはすでに肝芽腫で確認された 11 種の polymorphism に含まれていた。残りの１つは奇形腫の１例に見られたもので codon 98（CCG->CTG）におこり Pro->Leu のアミノ酸変化を生ずる missense 変異であった。この例についても非腫瘍組織の検討を行ったが、腫瘍と同様の変異が認められ germ-line 変異として存在することが確かめられた。

それぞれの polymorphism と考えた塩基配列変化は腫瘍症例全体で最低２例以上（頻度２～60%）に出現しており、ほとんどのものは 48 例の非腫瘍組織にも検出された。Codons 95、98 にみられた missense 変異については、検討した 150 例のすべての組織において双方とも一例のみの出現でありそれぞれの腫瘍症例に特異的であった。

〔総括〕β-catenin の異常蓄積がほぼ全例にみられる肝芽腫において、22 例中１例に Thr95Met の Axin 変異を認めた。この変異は germ-line 変異として存在し腫瘍特異的に出現したものではなかったが、この例ではβ-catenin 遺伝子異常も合併しており、Axin の germline 変異がβ-カテニン変異を続発するなど腫瘍性獲得への関連性も推測された。その他の腫瘍では１例の奇形腫において Pro98Leu の germline 変異を認めた。本研究により、小児腫瘍全体としては Axin 異常の関与は低いが、肝芽腫例など一部の症例においては腫瘍性の成立に何らかの関連を持つことが考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究では、肝芽腫をはじめとした小児固形腫瘍において、Wnt シグナル伝達系の因子の一つである Axin が如何に関わっているかが検討された。102 の腫瘍標本（肝芽腫 22 例、腎腫瘍 22 例、その他の腫瘍 58 例）とこれらと関連のない 48 例の非腫瘍組織において Axin 遺伝子の変異が検索され、腫瘍標本では合計 13 種類の一塩基配列変化が確認された。11 種のものはアミノ酸変化をもたらさない polymorphism と考えられ非腫瘍組織においても同様の頻度で出現していたが、その他の２種類は missense 変異（Thr95Met、Pro98Leu）でありそれぞれ肝芽腫１例、奇形腫１例で確認された。これらの結果は、一部の小児固形腫瘍において Axin 変異が腫瘍発生に関連し得ることを示唆するものの、小児腫瘍全体としてはこのことの関連性は低いことを示している。本研究は小児腫瘍における Axin 変異の関わりを明らかにするとともに、小児腫瘍と Wnt シグナル伝達系異常との関連を理解する上で有用な情報を提供しており、学位の授与に値すると考えられる。