



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 ミヤオ ジャン ヨシ
繆 江 永

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-3 β 、 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、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。