



Title	Constitutive activation of the c-kit oncogene product in human testicular germ cell tumors
Author(s)	中井, 康友
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45472">https://hdl.handle.net/11094/45472</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">〈a href="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">〈/a〉</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	中井康友
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第19330号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Constitutive activation of the <i>c-kit</i> oncogene product in human testicular germ cell tumors (ヒト精巣胚細胞腫瘍における <i>c-kit</i> 癌遺伝子産物の恒常的活性化)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 仲野 徹 教授 野口眞三郎

### 論文内容の要旨

#### [ 目的 ]

精巣胚細胞腫瘍(以下精巣腫瘍)は、青壮年の男性において発生する悪性腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍の一つである。精巣腫瘍の予後は一般的に良好であるが、進行症例の20-30%は治療に抵抗性となり不幸な転帰をとる。従って、精巣腫瘍の病態生理についてのさらなる理解が必要である。精巣腫瘍の発生機構は依然として不明ではあるが、12番染色体の短腕の増幅や、X染色体の過剰などが報告されている。近年 *c-kit* 遺伝子の転写産物である **KIT** が高頻度で精巣腫瘍で発現していることが報告されている。

**KIT** はレセプター型チロシンキナーゼである。**KIT** がリガンド stem cell factor (SCF) により活性化されると、細胞内のシグナル伝達機構が活性化され、細胞増殖や細胞死の抑制を引き起こす。**KIT** の発現している腫瘍としては他に Gastrointestinal stromal tumor (GIST) や mastocytosis が知られている。これらの腫瘍では *c-kit* 遺伝子の gain-of-function mutation が存在し、**KIT** をリガンド非依存的に活性化させており、このことが腫瘍の増殖や進展に関わっているものと考えられている。実際にこれらの腫瘍では活性化した **KIT** を標的とした治療によく反応することが知られている。

精巣腫瘍、特にセミノーマにおいて **KIT** は高頻度で発現していることが知られているものの、その活性化についての詳細な報告はなされていない。精巣腫瘍における **KIT** の発現は腫瘍発生や進展に関して何らかの役割を持っているものと考え、我々は精巣腫瘍における **KIT** の発現と、その活性化および *c-kit* 遺伝子の変異について検討した。

#### [方法ならびに成績]

対象は大阪大学附属病院および関連病院で精巣摘出術を受けた精巣腫瘍34例(セミノーマ25例、非セミノーマ9例)である。Stage I はセミノーマで20例、非セミノーマで7例、stage II はセミノーマで3例、非セミノーマで0、stage III はセミノーマで2例、非セミノーマで2例であった。

はじめに **KIT** の発現を免疫組織染色法で検討したところ、セミノーマの88.0% (22/25)、非セミノーマの44.4% (4/9) で発現しており、セミノーマで有意に発現率が高かった ( $p=0.0083$ ;  $\chi^2$  乗検定)。また、発現している **KIT**

は正常精巣で見られる truncated KIT ではなく 145 kDa の KIT であることを Western blotting 法で確認した。

KIT の発現しているセミノーマ 22 例で *c-kit* の遺伝子変異を polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) 法で調べたところ、遺伝子変異を 40.9% (9/22) に認めた。その内訳は juxtamembrane domain をコードする exon 11 に 2 例、kinase domain をコードする exon 17 に 7 例であった。それらの変異のうち 7 例はリガンド非依存的に KIT を活性化させる変異として知られているものと同一であった。

次に KIT の活性化の有無を免疫沈降法で調べた。具体的には、腫瘍組織の細胞抽出液を抗 KIT 抗体で免疫沈降し、それを抗リン酸化チロシン抗体でプロットすることにより KIT のリン酸化 (すなわち活性化) を検討した。結果は、遺伝子変異のある症例 9 例の KIT はすべての症例において活性化していた。さらに、KIT が発現していて *c-kit* 遺伝子の変異のない 13 例のうち、7 例において KIT は活性化していた。さらに、これらの、KIT が活性化しているすべての症例で、Akt がリン酸化を受けており、KIT の活性化により PI3K-Akt の経路が活性化されていることが示唆された。

#### [ 総括 ]

今回の研究で、精巣腫瘍、*c-kit* の遺伝子産物 KIT は高頻度に発現しており、しかも KIT は高頻度に活性化していることが明らかになった。活性化の機構としては *c-kit* 遺伝子の gain-of-function mutation が重要な役割を担っているものと考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

*c-kit* 遺伝子にコードされるレセプター型チロシンキナーゼ KIT は精巣腫瘍において高頻度に発現していることが知られている。申請者は、精巣腫瘍におけるレセプター型チロシンキナーゼ KIT の役割について検討した。

はじめに、精巣腫瘍 34 例 (セミノーマ 25 例、非セミノーマ 9 例) について KIT の発現を検討したところ、セミノーマの 88% (22/25)、非セミノーマの 44.4% (4/9) に発現を認めた。このうち KIT の発現しているセミノーマで *c-kit* の遺伝子変異を 40.9% (9/22) に認め、その変異の大部分はリガンド非依存的に KIT を活性化させる変異として知られているものと同一であり、2 例が新規の変異であった。実際に、KIT の活性化は、遺伝子変異のある症例すべてにおいて認められ、遺伝子変異のない症例でも 53.8% (7/13) に認められた。以上の結果より、精巣腫瘍、特にセミノーマにおいて KIT の活性化は広汎に見られる現象であり、*c-kit* 遺伝子の変異がその一因となっていることが明らかになった。今回の研究で、活性化した KIT を標的とした治療法の可能性が示唆された。

以上の研究は学位に値するものとする。