

(10)

氏名(生年月日)	片平真佐子
本籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第201号
学位授与の日付	平成4年2月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程終了者)
学位論文題目	<b>Detection of aberrations of the p53 gene but not the RB gene in human brain tumors by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products</b> (ヒト脳腫瘍における p53および RB 遺伝子異常の一本鎖 DNA 高次構造多型解析による検出)
論文審査委員	(主査) 教授 丸山 勝一 (副査) 教授 内山 竹彦, 溝口 秀昭

### 論文内容の要旨

#### 目的

がん抑制遺伝子は、2つのアレルが共に変異をおこすことにより、ヒトの種々の癌で、その癌化に参与していると考えられている。我々は脳腫瘍における遺伝子異常を把握することを目的として、がん抑制遺伝子 p53, RB に関してゲノム DNA 並びにその転写物の構造解析を行った。

#### 材料と方法

ヒト脳腫瘍手術材料16例, 培養細胞8株から抽出した全細胞 RNA を鋳型とし、逆転写酵素反応にて cDNA 断片を作製した。p53cDNA は6個, RBcDNA は13個の領域に分けて PCR を行うことにより、全塩基配列を増幅し、得られた DNA 断片につき、一本鎖 DNA 高次構造多型 (SSCP) 解析を行った。異常を示した腫瘍に関しては、ゲノム DNA でも異常のあることを PCR-SSCP 解析で確認し、異常 DNA 断片の塩基配列を決定した。

#### 結果と考察

p53遺伝子に関しては、glioblastoma の手術材料7例中3例, 培養細胞7株中4株に、また meningioma の手術材料4例中1例に異常を観察した。8例中6例において一方のアレルの欠失が観察され、残存アレルに点突然変異あるいは一塩基の欠失があった。アレルの欠失のない2例中1例に点突然変異を検出している

が、残る1例は未同定である。点突然変異をもつ6例中5例が G から A (または C から T) へのアミノ酸変化を伴う置換であった。これら変異の大部分は、異種生物間で保存された領域に存在した。変異遺伝子は全て転写されていた。RB 遺伝子に関しては、解析した全例において構造異常を認めなかった。

#### 結論

glioblastoma の培養細胞の57%, 手術材料の43%で p53遺伝子の異常を観察した。この異常の比較的高い頻度は、p53遺伝子が glioblastoma の形成に深く関与していることを示唆する。RB 遺伝子に関しては、解析した全例において構造異常を認めなかった。

## 論文審査の要旨

ヒトの癌遺伝子は、2つのアレル(対立遺伝子)がともに変異を起こすことにより癌化に関与するとされているが、本論文は、脳腫瘍特に glioblastoma における遺伝子異常の把握を目的として、癌抑制遺伝子 p53, RB について DNA 並びにその転写物の構造を行い、p53にはアレルの欠失、点突然変異、一塩基の欠失等の遺伝子異常が高頻度に認められ、且つ、総て転写されていること、他方、RB には構造異常が無いことを確認、p53遺伝子が glioblastoma の形成に深く関与していることを初めて明らかにしたもので、学術的に価値ある論文である。

### 主論文公表誌

Detection of aberrations of the p53 gene but not the RB gene in human brain tumors by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products

(ヒト脳腫瘍における p53およびRB 遺伝子異常の一本鎖 DNA 高次構造多型解析による検出)

東京女子医科大学雑誌 第62巻 第3号  
206-213頁(平成4年3月25日発行)

### 副論文公表誌

- 1) 小児脳腫瘍患者に対する放射線治療の影響. 小児の脳神経 15:193-198(1990)片平真佐子, 久保長生, 井上憲夫, 村垣善浩, 内布英明, 仁田仁恵, 田鹿安彦, 坂入光彦
- 2) In activation of the retinoblastoma gene in a human lung carcinoma cell line detected by

single-strand conformation polymorphism analysis of the polymerase chain reaction product of cDNA (cDNA の PCR-SSCP 解析によって検出された肺癌細胞株における RB 遺伝子の不活化). Oncogene 6:37-43(1991)  
村上善則, 片平真佐子, 牧野鈴子, 林 健志, 関谷剛男

- 3) 放射線療法後に両側大脳基底核に石灰化をきたした小児脳腫瘍の3例. 小児の脳神経 12(6):479-484(1987)久保長生, 田鹿安彦, 坂入光彦, 片平真佐子, 清水 隆, 喜多村孝一
- 4) Oligodendroglioma の免疫組織化学的検索と臨床像について. Neurol Surg 16(9):1029-1035(1988)久保長生, 田鹿安彦, 遠山 隆, 田鹿妙子, 坂入光彦, 片平真佐子, 喜多村孝一