

学位授与番号	医博甲第1050号
学位授与年月日	平成4年3月25日
氏名	伏田幸夫
学位論文題目	ヒト胃癌細胞株におけるp53遺伝子の構造異常解析

論文審査委員	主査 教授 宮崎逸夫
	副査 教授 磨伊正義
	教授 渡辺洋宇

内容の要旨および審査の結果の要旨

現在、著しい分子生物学の発展に伴いヒト癌における発癌、進展、転移のメカニズムが遺伝子レベルで解明されつつある。さらに、遺伝子異常のなかでも、本来の機能を失うことで正常な細胞動態からの逸脱を引き起こすと考えられる遺伝子、すなわち癌抑制遺伝子が染色体異常の解析により各種発見され、いろいろな癌において検討されている。しかしながら、ヒト胃癌における癌抑制遺伝子の解析はほとんどなされていないのが現状である。そこで本研究では、ヒト胃癌継代培養細胞株10株を用いて癌抑制遺伝子p53遺伝子の構造異常について検討した。

まず各細胞株から全RNAを抽出し、ノーザンプロットにてp53遺伝子の発現の有無を検討した。つぎに高分子DNAを抽出し、サザンプロットにて増幅、再構成、欠失の有無を検討した。さらに電気泳動にて、たった1塩基の変異さえも移動度の違いにより検出可能な新しい方法であるRT-PCR-SSCP法 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism method) を用い、構造異常の存在する細胞株をスクリーニングし、ジ・デオキシ法にて塩基配列を決定した。最後に、抗ヒトp53モノクローナル抗体PAb1801を用いて免疫組織染色をおこない、以上の結果と比較検討した。得られた結論は以下のごとく要約される。

- 1) ヒト胃癌継代培養細胞株10株中1株にp53遺伝子の完全欠失を、また他の4株に1塩基変異による構造異常を認めた。
- 2) 構造異常を認めた4株の変異部位はすべてp53遺伝子の機能ドメイン (II, III, IV, V) 上に存在した。
- 3) 抗ヒトp53モノクローナル抗体PAb1801を用いた免疫組織染色の結果、構造異常を持つp53タンパクとこの抗体はよく反応することがわかった。p53遺伝子の構造異常のスクリーニングには、この抗体を用いた免疫組織染色が簡便で有用な方法であると考えられた。

以上より本研究は、p53遺伝子がヒト胃癌に関与する主要な遺伝子であることを初めて明らかにした分子生物学上価値ある労作と認められた。