

J-S3-3

DNA多型性(RFLP)を利用した染色体欠失の解析

国立がんセンター研究所がん転移研究室・横田淳

ヒトがん細胞に見られる特定染色体領域の欠失は、がん抑制遺伝子(antioncogene)の不活化を引き起こす変化として注目されている。網膜芽細胞腫など一部のがんでは、以前より、核型分析で特定染色体領域に欠失があることが指摘されており、欠失部位にあるがん抑制遺伝子が二段階変化の結果不活化して、がんが発症するという仮説が立てられていた。この仮説を立証するためには、欠失領域を分子レベルで同定し、さらにはその領域から遺伝子を単離して解析していく必要がある。しかし、核型分析で欠失と判定できる領域は遺伝子レベルでは最低1000kb以上あると考えられており、欠失領域の遺伝子解析を行なうのは容易なことではない。そこで核型分析から遺伝子分析へ発展させるためには分子レベルでのより詳細な情報が必要となるが、その情報を得るために極めて有用な分子遺伝学的方法が開発されている。それは、RFLP(restriction fragment length polymorphism)分析と呼ばれており、遺伝的に決められている各個人の塩基配列の個体差(DNA多型性)を利用して相同染色体を識別し、染色体欠失の有無を判定するものである。即ち、DNAを制限酵素で切断し、染色体上の位置が同定されているDNAフラグメント(多型性DNAマーカー)をプローブとしてサザンブロット法で解析すると、切断されたDNA断片の長さに差があるとき、相同染色体のそれぞれにあるDNAフラグメントが2本の異なるサイズのバンドとして検出される。そこで、患者の正常組織DNAを制限酵素で切断したときに2本のバンドとして検出され、腫瘍組織DNAでそのうちどちらか一方が消失していれば、そのDNAマーカーを含む染色体領域が腫瘍細胞で特異的に欠失していると判定できる。同一染色体上に散在する多くのDNAフラグメントをプローブとして解析すれば、欠失領域を分子レベルで同定でき、さらに共通欠失領域にあるDNAマーカーを出発点として遺伝子解析へと発展させることができるわけである。網膜芽細胞腫における第13染色体欠失の研究でこの方法の有用性が示され、がん抑制遺伝子としてR_B遺伝子が分離されるに至っている。その後、核型分析の困難な様々な固形腫瘍における染色体欠失の有無についてもRFLP分析で解析が進み、その結果、多くのがんにそれぞれ特有な染色体欠失領域があることが分かってきている。そこで現在では、多くのがんの発症に染色体欠失を伴ったがん抑制遺伝子の不活化が関与していると考えられるようになってきている。我々も、RFLP分析で種々のヒトがんにおける染色体欠失の有無について検討しているが、予想以上に高頻度に特定染色体領域の欠失が見い出されている。特に、肺がん、子宮頸癌、肝がん、神経芽細胞腫などで、各々に特有な染色体領域の欠失を見い出しているので、その結果を紹介しながらDNA多型性を利用した染色体欠失の解析法について述べる。さらに、肺小細胞がんにおける第13染色体欠失及びR_B遺伝子の異常を例にあげ、がん抑制遺伝子不活化による発がん機構についても概説したい。