

新潟ゲノム医学研究会

日時 平成13年6月30日
13:30~17:00
場所 新潟大学医学部附属病院
MINCS 新病棟3階

一般演題

1) 口唇・口蓋裂における19q13.2領域のマイクロサテライト多型を用いた連鎖解析について

藤田 一・永田 昌毅
小野 和宏・高木 律男

新潟大学大学院
歯学総合研究科
口腔生命科学専攻
口腔健康科学講座
顎顔面口腔外科学分野

【緒言】日本人の唇裂・唇顎口蓋裂(CL/P)および口蓋裂(CP)多発家系を対象に、19番染色体上のBCL3遺伝子および近傍の遺伝子座について連鎖解析を行い、本疾患との関連性について検討した。【対象と方法】新潟大学歯学部附属病院口腔外科顎顔面外科診療室を受診したCL/PおよびCP患者の家系調査を詳細に行い、少なくとも親子で本疾患の発症を認めたCL/P群9家系60名(患者20名, 非患者40名), CP群2家系12名(患者5名, 非患者7名)を対象とした。なお、合併奇形を有する症例は除外した。本研究の施行には、新潟大学歯学部倫理委員会の審査と承認を受け、対象家系には研究の主旨を十分に説明して得た上で末梢血採血を行った。ゲノムDNAを抽出後、19q13.2領域に存在するD19S178, BCL3, 007/008, AC1/AC2の4つのマイクロサテライトマーカーを用いてPCR増幅し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行って銀染色法にて各アリルを検出し、遺伝子型を判定した。連鎖解析に輸入が必要な各遺伝子座の多型情報については、健常日本人50名について同様に分析し、アリル数およびアリル頻度、ヘテロ接合度を求めた。次いで、各家系の情報、遺伝子型を入力し、常染色体優性遺伝モデルとしてLINKAGE packageのMLINKおよびFASTLINKにて二点連鎖解析を行い、各組換え率におけるLODスコアを求めた。【結果と考察】CL/P群において、affected-onlyモデルの場合では、全てのマーカー部位において原因遺伝子の存在が否定された。一方、浸透率0.8, 0.6, 0.3の場合では、D19S178, 007/008, AC1/AC2の両側約1cM以内に原因遺伝子の存在が否定されたが、

BCL3では、浸透率0.999, 組換え率0で最大LODスコア0.206を示し、連鎖否定とも連鎖ありとも判定できず、原因遺伝子の存在は不確定であった。CP群では、affected-onlyモデル、浸透率0.8, 0.6, 0.3のいずれにおいても、全てのマーカー部位において両側約1~2cM以内に原因遺伝子の存在が否定された。

2) 肝細胞癌発癌予知因子としてのゲノム不安定性の定量的評価

川合 弘一・須田 剛士(新潟大学)
青柳 豊(第三内科)

【目的】ウイルス性慢性肝炎における肝細胞癌の発癌は、肝での持続的な慢性炎症による遺伝子異常の蓄積が原因であると推察されているが、現在のところ発癌の危険性を示す良い指標はない。そこで我々は、マイクロサテライト領域におけるヘテロ接合性の喪失(LOH)と複製エラー(RER)の出現頻度の測定によるゲノム不安定性の定量的評価が発癌の予知因子として有用であるか、また対照として従来の報告にある慢性炎症を伴った非癌肝組織ではなく末梢血リンパ球(PBL)を用いることの有用性について検討した。

【対象と方法】肝細胞癌患者15例の癌部(HCC)と周囲非癌部(SL), および非担癌ウイルス性慢性肝炎患者13例の肝組織(NC)を対象に、各患者から得たPBLを対照として、18種のマイクロサテライトマーカー(D1S204, D2S123, D3S1768, D4S1625, D6S1009, D7S1793, D8S1106, D9S266, D10S1208, D11S1392, D12S375, D14S53, D15S165, D16S748, D19S601, D21S1437, D22S683, DXS1217)を用いPCRで増幅した後、LOHとRERの頻度を算出した。肝細胞癌症例の病原肝炎ウイルスはB型6例, C型9例, 背景肝組織像は慢性肝炎7例, 肝硬変8例で、NCはB型4例, C型9例, 慢性肝炎12例, 肝硬変1例であった。またSL及びNCにおいて、慢性肝炎の組織学的進展度の指標であるHistological Activity Index(HAI) scoreとLOH, RERの頻度との相関について検討した。

【結果】1) HCC: SL: NCでのLOHの総計は、32/203: 15/203: 4/173(LOH/informative markers), 各症例のLOHの頻度は、15.5 ± 11.6%: 7.6 ± 9.1%: 2.4 ± 3.9%(平均±標準偏差)で、HCCで有意に高頻度であった(P=0.005, P=0.0003)。2) HCCでのRERの頻度は6.7 ± 8.5%で、NCの1.3 ± 2.4