

Molecular analysis of radiation-induced renal tumors in Eker (Tsc2+/-) rats

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2014-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井上, 達也 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001595

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	井上 達也
論文題目	Molecular analysis of radiation-induced renal tumors in Eker (<i>Tsc2^{+/+}</i>) rats (Eker ラットにおける放射線誘発腎腫瘍の分子解析)		

【目的】

F1(F344 x Eker)ラットにおける放射線誘発腎腫瘍における野生型アレルの *Tsc2* 遺伝子の不活化様式を解明する。

【方法】

Tsc2 遺伝子ヘテロ型の F1 ラット(♂Eker x ♀F344)に、胎生 19 日齢(GD19、n=♂8,♀18)、あるいは生後 5 日齢(PND5、n=♂9,♀11)で γ 線 2 Gy を全身照射し、52 週齢時に左右の腎臓および腎腫瘍を採取した。また放射線を照射していないラット(Control、n=♂8,♀5)を対照群として置いた。HE 組織標本(ラット個体あたり左右の腎臓から 5 切片作製)を用いて、ラット個体あたりの腎腫瘍の発生数をカウントし、非照射と照射群の比較を行った。また腎腫瘍から DNA、RNA (Control 群: 8 サンプル、GD19 群: 24 サンプル、PND5 群: 10 サンプル) を抽出し、*Tsc2* 遺伝子に対する LOH 解析と塩基配列解析、および *Tsc2* 遺伝子近傍の 8 つのマイクロサテライト領域に対する LOH 解析を行った。また、タンパクの抽出を行った腫瘍サンプル (Control 群: 2 サンプル、GD19 群: 4 サンプル、PND5 群: 2 サンプル) に対して、ウェスタンブロット解析を行い、*Tsc2* 遺伝子タンパクであるチュベリンの発現量を確認した。

【結果】

照射群におけるラット個体あたりの腫瘍発生数 (GD19 群: ♂7.6±1.6 ♀3.3±1.7、PND5 群: ♂6.2±2.8 ♀2.2±1.3; mean±SD) は、非照射群(♂2.9±1.5 ♀0.4±0.5)に比べて、雌雄とも有意に増加した (P<0.01)。*Tsc2* 遺伝子のヘテロ接合性の消失 (LOH) は、非照射群で 38%、GD19 群で 29%、PND5 群で 60%であった。ラット 10 番染色体の LOH パターンは、*Tsc2* 遺伝子を含む領域に染色体不分離もしくは組換え型 LOH が非照射群で 38%、GD19 群で 16%、PND5 群で 40%観察された。また、*Tsc2* 遺伝子を含む中間欠失型の LOH が GD19 群で 13%、PND5 群で 20%観察されたが、非照射群では 0%であった。また、塩基配列解析では、非照射群と GD19 群に欠失変異 (13%、4%) とフレームシフト変異 (13%、17%) が野生型アレルに検出された。また、GD19 群ではミスセンス変異 (4%) が検出された。チュベリンの欠損は非照射群で 2/2、GD19 群で 3/4、PND5 群で 0/2 観察された。

【考察】

自然発生腎がんの約 90%に、また放射線照射群の約 60-70%に *Tsc2* 遺伝子の不活化が明らかになった。非照射群と照射群の間には、腎腫瘍の発生数に有意差は見られたが、LOH の頻度や、変異スペクトラムの割合、タンパクの発現量に有意差は見られなかった。しかし、放射線誘発腎腫瘍においては、中間欠失型の LOH の増加が特徴的に見られ、腎腫瘍の発生数増加に関与する放射線特異的な変異であることが示唆される。