| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 鈴 木 淳 史 (滋賀県) |
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 博士第263号 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 学位授与年月日 | 平成10年3月24日 |
| 学位論文題目 | Gene expression of malignant rhabdoid tumor cell lines by reverse transcriptase polymerase chain reaction<br>(悪性横紋筋様腫瘍細胞株のRT-PCR法による遺伝子発現) |

審査委員　主査　教授　北 嶋 和 智
副査　教授　大久保 岩 男
副査　教授　島 田 司 巳

# 論文内容の要旨

【目　的】

Malignant Rhabdoid Tumor (MRT=悪性横紋筋様腫瘍) は乳児及び幼初期に好発する極めて予後不良の悪性腫瘍である。近年、本腫瘍の存在が一般に知られるようになり、症例数が増加してきている。MRTの原発巣としては、腎由来と腎外組織由来の2系統に大別される。また、その組織由来については多くの研究が行われてきたにもかかわらず、神経原発、間葉系原発、組織球原発などの諸説がみられ、未だ不明な点が多い。本研究ではMRTの特性を明らかにするため、これまでほとんど行われていない遺伝子レベルでのmRNAの発現を検討し、MRTの持つ生物学的特性について検索した。

【方　法】

MRTの4細胞株、すなわちTM87-16, STM91-01,TTC642 及び TTC549について検討した。このうちSTM91-01は腎原発で、他の3株は腎外組織原発である。いずれも2歳以下で発症し、治療の効果なく死亡しており、病理学的には好酸性細胞質内封入体(eosinophilic inclusion)等の典型的なMRTの所見を有していた。分化誘導としてall-trans retinoic acid (RA、濃度 $2\times10^{-5}$ M あるいは$1\times10^{-4}$ M)、12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA、100 nMあるいは 500 nM) 、Interleukin-3 (100ng/ml) , Interferon $\gamma$ (1000IU/ml)を各々別個に添加して、5日間培養した。 未処理の細胞と分化誘導後の細胞からmRNA を採取し、reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)法により各種のmRNAの発現の有無を検索した。Probeとしては、神経系のマーカーとしてtyrosine hydroxylase (TH), neural-cell adhesion molecule (N-CAM), high affinity nerve growth factor receptor (trkA), neurofilament medium-size (NF-M) 及びchromogranin A (CGA) を使用した。横紋筋のマーカーとしてはMyoDを、間葉系マーカーとしてはS100$\alpha$とS100$\beta$を使用した。Proto-oncogeneのマーカーとしてはN-mycとc-mycを使用した。成長因子系のマーカーとしてはinsulin-like growth factor II (IGF-II)、IGF-I receptor (IGF-IR)及びIGF-II receptor (IGF-IIR) を検索に使用した。なお、対照として神経芽腫の2株と、横紋筋肉腫と線維芽細胞の各々1株を用いた。

【結　果】

形態学的には、TM87-16において、RA, TPAとIFN$\gamma$による分化誘導後にcytoplasmic processesの萌出を認めたが、IL-3による分化誘導では変化はみられなかった。他の3細胞株では各種分化誘導によって変化がみられなかった。RT-PCRでは、N-myc, MyoD, TH、N-CAM, trkA、S100$\beta$は4細胞株すべてで分化誘導前及び後ともに発現は認められなかった。c-myc, IGF-II, IGF-IR, IGF-IIRは分化誘導前後のすべての細胞株で発現が認められた。S100$\alpha$はSTM91-01を除く3細胞株で、NF-MはTM87-16とTTC642の2細胞株で、分化誘導前後とも発現がみられた。CGAはTM87-16株において、高及び低濃度のTPAと高濃度のRA処置群でのみ発現が認め

られた。尚、処理前のTM87-16株ではCGAの発現は全く認められなかった。

【考　察】

現在横紋筋系の代表的マーカーとして汎用されているMyoDについては分化誘導前後ともに発現がみられず、MRTに横紋筋系の成分は含まれていないものと考えられた。

MRT培養細胞株における検討では、小児悪性固形腫瘍中最も頻度の高い神経芽腫でみられるN-myc、ＴＨやN-CAMの発現は分化誘導前後ともに認められなかった。S100$\beta$については神経芽腫では発現がみられるが、MRT培養細胞株では認められず、むしろ間葉系と思われるS100$\alpha$の発現が一部で認められた。しかし、2細胞株でNF-Mの発現がみられ、更にそのうちのTM-87-16では、分化誘導によってCGAの発現がみられたことから、MRTの一部には神経芽腫よりもむしろperipheral primitive neuroectodermal tumor（pPNET= 末梢性の神経外胚葉腫瘍）に近い性質をもつものが混在することが明らかとなった。また、他のMRT系の株では、総じて分化誘導に対して抵抗性が高く、本質的には間葉系（mesenchymal）腫瘍の性格を持つことが判明した。

【結　語】

Malignant Rhabdoid Tumor（MRT）の培養細胞株で分化誘導前後のmRNAの発現をRT-PCR法を用いて検討した。一部の細胞株では神経外胚葉系の性質を持つことが判明した。他の2株は間葉系と考えられた。この結果は、multiphenotypic diversityと云われるMRTの特性を反映しているものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

Malignant Rhabdoid Tumor(MRT, 悪性横紋筋様腫瘍)の4細胞株を用いて、MRTの生物学的特性を明らかにするため、未処理と化学物質(RA, TPA)あるいはサイトカイン(IL-3, IFN-$\gamma$)による分化誘導後のmRNAの発現の有無を検討し、以下の結果を得た。c-myc, IGF-II, IGF-IRおよびIGF-IIRは分化誘導前後ともに全ての細胞株で発現を認めた。MyoD, N-myc, tyrosine hydroxylase, trkA, N-CAMとS100$\beta$は、全ての細胞株で分化誘導前後ともに発現は認められなかった。Neurofilament medium sizeは2細胞株で分化誘導前及び後ともに発現があり、その内の1細胞株ではRAとTPAによる分化誘導後にchromogranin Aの発現があった。S100$\alpha$は3細胞株で分化誘導前後ともに発現があった。これより、MRTにはneuroectodermal phenotypeとmesenchymal phenotypeを示す少なくとも2群があり、従来いわれていたMRTの持つmultiphenotypic diversityが初めて遺伝子レベルで証明された。以上の結果は、未だ組織起源の不明なMRTの性質を明らかにしたことにおいて、腫瘍診断学に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認められる。

なお、本学位授与申請者は、平成10年1月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。