《シンポジウム III》

分子生物学の核医学応用

司会 高久史麿
東京大学第三内科
珠玖洋
長崎大学腫瘍医学科

1. イントロダクション

珠玖洋
長崎大学腫瘍医学科

生体構成分子を適当なアイソトープにより標識し，その推移を追跡することにより分子そのものの動態が推しはかられる．*in vitro* におけるこのアイソトープの利用法は医学生物学の飛躍的な進歩を促してきた．生化学的解析，免疫学的解析を中心とした各種生物学的解析技術の多くは，標識分子を用いたアイソトープの利用により推し進められてきた．そしてまた，アイソトープ標識されたDNA, RNAをフルに利用しつつ，分子生物学は遺伝情報そのものであるDNAの解析からその遺伝子の最終産物である蛋白質の構造機能解析までを含む生物学の重要な分野として大きく飛躍してきた．とりわけ分子生物学者が，その興味と技術応用の対象を大腸菌から哺乳類，さらにヒトへと拡張し始めることにより，医学との強い結び付きが生じ始めた．

分子生物学の中心的な課題であるDNAの解析には，このDNAの持ついくつかの特有な性質が利用されている．ひとつには，2本のDNA，またDNAとRNAは，相手の塩基配列と互いに相補的な塩基配列を有した時に特異的に結合する．この性質により，1本のDNAをラジオアイソトープにより標識することにより，DNAまたはRNA集団の中にそれと相補的に結合できるDNAまたはRNAの存在を検出できる．得られた核酸集団からの特定のDNAの検出に用いられるサザンブロット法，RNAの検出に用いられるノーザンブロット法はこの相補的結合の性質によっており，おのおの遺伝子解析の最も基本的な技術となっている．細胞より取り出した核酸の解析を行うのではなく，細胞内におけるDNA, RNAを直接検出する方法も試みられている．これら *in situ* ハイブリダイゼーションと呼ばれる方法は，特定の遺伝子が存在している染色体の部位を同定するために，また遺伝子がどの細胞内でmRNAとして発現されているかを細胞または組織内にて同定するために用いられる．いまひとつ重要なのは，制限酵素の存在である．現在までに多くの制限酵素の存在が知られ，特定の制限酵素は，DNA上の特定の配列を有した部位のみを切断する．DNAの配列順序の変化は制限酵素に対する感受性の変化として現れる．その結果，制限酵素に感受性のある部位の変化が生じ，酵素処理によって得られるDNA断片の長さが異なってくる．

このようなDNAの性格を利用して，細胞内核酸の解析が進められ，DNA→mRNA→蛋白，蛋白→mRNA→DNAといういずれの方向にも研究が発展させられている．

本シンポジウムでは，いくつかの核酸の解析方法を用いて，いかにして疾患の病態の解析がされていくのか，そして今後，どのような方向に発展し得るのかにつき，各種疾患の分子生物学的解析を行っておられる方々に討論していただく．

島田先生には，DNA解析が最も直接的に応用できる先天性疾患，家族性アミロイドポリニューロパチーの遺伝子解析について，また葛巻，平井両先生には癌遺伝子，とりわけras遺伝子と発癌のかかわりについて発表願う．

Presented by Medical*Online

平湯先生には甲状腺ろ胞細胞分子の遺伝子単離につき報告していただく．大津留先生には *in situ* ハイブリダイゼーション法による肝組織内でのαフェトプロテインの mRNA 発現細胞同定につき，また，吉田先生には染色体における各種遺伝子の局在部位の同定につき紹介していただく．

これらの発表および討論を通じて，分子生物学と医学，核医学とのかかわりの現状と今後の方向が明らかになれば幸いである．

2. 代 謝 病

先天代謝異常——DNA 診断と病因解析

島 田 和 典
熊本大学生化学第一

試験管内の遺伝子組換え技術の進歩で，ヒト由来の cDNA や遺伝子 DNA が次々に単離され，塩基配列構造が明らかにされている．そして，これらクローン化された DNA 断片を用いて種々の遺伝病の DNA 診断が可能になりつつある．われわれは，難病の一つで，常染色体優性の遺伝形式をとる家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) について，cDNA を用いた DNA 診断法を開発して，病因の解析を行っているので，この例を中心に，先天代謝異常の DNA 診断と発症機構の研究の現状について紹介したい．

FAP では血清蛋白の一種であるプレアルブミン (PA) の ^{30}Val→Met に置換した異型 PA の沈着が病因とされている．発症年齢は 20–50 歳で，遺伝子変異とともに環境因子も発症に重大な関連があることが予想されているが，発症機構は不明である．

1) ヒト肝臓の cDNA ライブラリーより PA cDNA を単離して，その全塩基配列構造を明らかにした．

2) この PA cDNA の構造から ^{30}Val→Met への置換の結果，異型 PA 遺伝子 DNA 上には制限酵素 *Nsi* I および *Bal* I の切断部位が生じていることが予想された．

3) 実際に，*Nsi* I または *Bal* I で正常コントロールおよび FAP 患者の末梢血より抽出した DNA を切断後，^{32}P でラベルした PA cDNA をプローブにしてサザンブロット解析を行うことにより，異型 PA 遺伝子を検出可能なことが明らかになった．

4) この方法で，FAP 家系 63 例と正常コントロール 10 例より得た DNA サンプルにつきサザンブロット解析を行った．その結果，正常コントロール 10 例および FAP 家系の健康配偶者 9 例には異型 PA 遺伝子を認めなかった．また FAP 患者 22 例すべてが正常および異型 PA 遺伝子をもつヘテロ接合体であることが明らかになった．さらに，FAP 家系の無症状者 32 例中 12 例はヘテロ接合体であったが，すべて 50 歳以下であった．FAP の平均発症年齢は 38 歳であり，これら 12 例は将来発症する可能性が高いと考えられる．

5) 上記の結果は FAP 発症と異型 PA 遺伝子とが密接に連鎖していることを示している．そこで，次に正常および異型 PA 遺伝子を単離し，それらの塩基配列構造を明らかにした．その結果，異型 PA 遺伝子では，予想された一塩基のみが正常遺伝子と異なることが明らかになった．

6) 次いで，FAP の発症機構を解明するため，ヒトの異型 PA 遺伝子を用いて FAP のモデルマウスを作成することを目指した．そのために，トランスジェニックマウス作成の技術を用いて，ヒトの異型 PA 遺伝子 DNA をマウスの受精卵に導入してヒトの異型 PA 遺伝子をもつマウスを作成した．

以上の結果を中心に，先天代謝異常の DNA 診断と発症機構の解析について考察したい．

FAP の DNA 診断に関する研究はわれわれのグループと熊本大学医学部第一内科学教室の荒木淑郎教授のグループとの共同研究であり，FAP モデルマウスの開発に関する研究は熊本大学医学部遺伝医学研究施設細胞遺伝部の山村研一教授のグループとの共同研究である．

Presented by Medical*Online