

近畿大学医学会記念講演

I. 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法による高精度ヒト1番染色体短腕の細胞遺伝学的地図の作製と1p36.1領域のコスミッドマーカの配列決定

有山 武志

近畿大学医学部第3内科学教室

ヒト1番染色体の短腕には、生物学的にも重要な構造遺伝子や悪性黒色腫、胃癌、大腸癌、神経芽細胞腫などの癌抑制遺伝子、また種々の病型の造血器腫瘍の転座切断点が多数存在すると考えられている。これら遺伝子の単離を目指すためには、多数のDNAマーカを備える高精度の細胞遺伝学的地図の作製が必須の行程となる。今回の研究では、ヒト1番染色体短腕に特異的な新たな635個のDNAマーカを単離し、これらを用いて蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (fluorescence *in situ* hybridization; FISH) 法により411個のマーカを1番染色体短腕上にマップした。結果、平均マップ距離が約0.3 Mbと従来に報告のない高精度なヒト1番染色

体短腕細胞遺伝学的地図を作製することができた。さらに1p36.1領域にマップされた18個のマーカを用い、prophase FISH ordering systemおよびstretched DNA FISH法により1p36.1領域のDNAマーカ配列地図を作製した。今回完成させたヒト1番染色体短腕細胞遺伝学的地図は、1p36.1領域のコスミッドマーカの配列地図をも備えたものであり、種々の悪性腫瘍の詳細な欠失地図の作製に寄与し、癌抑制遺伝子や種々の病型の造血器悪性腫瘍に関連した転座切断点のポジショナルクローニング法による単離アプローチにおいて、貴重な情報と具体的な材料を提供するものと考えられる。

II. CL/Fr マウスの自然発現口唇口蓋裂の形態学的研究およびビタミンAの奇形発現予防作用

門脇 真吾

近畿大学医学部第1解剖学教室

口唇口蓋裂は日本人で頻度の高い先天奇形であり、かつ、機能および美容の点から臨床的にも極めて重要な先天異常であり、現在まで実験的、臨床疫学的研究が数多くなされているが、その成因についてはなお、十分に解明されていない。本研究は、奇形の予防の可能性を検索するため、形態学的、発生学的立場から口唇口蓋裂自然発現系統マウスであるCL/Frマウスを用い、口唇口蓋裂の発生機序を探索するとともに、その成立頻度を減少する試みとして、ビタミンA (VA) を用いて口蓋部位の器官培養を行い、詳細に検討したものである。VA50, 150, 450 IU/g、妊娠10日腹腔内投与マウスにおける *in vivo* での口唇口蓋裂発生頻度 (妊娠16日に剖検) とShiotaらの開発した口蓋部位の器官培養 (妊娠13日から72時間培養) 下の *in vitro* での発生頻度を比較検討した。なお、対照群としては生理食塩水を投与した。その結果、形態形成に重要な役割を演じているVAを妊娠マウスに投与した後の *in vivo* の口唇口蓋裂発生頻度は投与群で低下する傾向がみられた (対照22.7

%, 50 IU/g 投与群16.3%)。しかし、高濃度投与群では口蓋裂単独発生、小顎症、短肢、指奇形が投与量依存性にみられ、VAの催奇形性が示されたうえ、450 IU/g 投与群では子宮内晩期胎児死亡が23.4%と対照群の3.3%より有意に増加し ($p < 0.001$)、VAの胎児毒性も認められた。In vitro では口唇裂の有無に関わらず、50~150 IU/g の間に最も口蓋の癒合度が良好となる至適量が存在した。すなわち、口唇裂 (-) の場合、対照群で口蓋突起の癒合度は40.4%であったのに対して150 IU/g 投与群では72.0%に、口唇裂 (+) の場合、50.0%から78.9%に有意に増加した ($p < 0.05$)。450 IU/g 投与群では150 IU/g 投与群より、癒合度は若干低下した。従って、適切な処置によりVAなどの外的因子が口唇口蓋裂の発生を予防しえることが証明されたと同時に、同マウスはVA欠乏によって奇形が発生している可能性が示唆された。この作用がVAの直接作用であるのか間接作用であるのかを確認するために、生化学的な裏付けが必要と考えられる。