



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ヒトガストリン遺伝子の，正常組織及びガストリノーマ組織における発現                                                                                                                                                                                                                                    |
| Author(s)    | 假家，良則                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学，1988，博士論文                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/36628">https://hdl.handle.net/11094/36628</a>                                                                                                                                                                                  |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|         |                                       |        |         |         |
|---------|---------------------------------------|--------|---------|---------|
| 氏名・(本籍) | かり<br>假                               | や<br>家 | よし<br>良 | のり<br>則 |
| 学位の種類   | 医                                     | 学      | 博       | 士       |
| 学位記番号   | 第                                     | 8      | 3       | 2       |
| 学位授与の日付 | 昭和63年                                 | 8月     | 9日      |         |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当                          |        |         |         |
| 学位論文題目  | ヒトガストリン遺伝子の、正常組織及びガストリノーマ組織における<br>発現 |        |         |         |
| 論文審査委員  | (主査)                                  |        |         |         |
|         | 教授                                    | 垂井清一郎  |         |         |
|         | (副査)                                  |        |         |         |
|         | 教授                                    | 松原 謙一  | 教授      | 吉川 寛    |

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

主要な消化管ホルモンの一つであるガストリンは、元来胃前庭部粘膜のG細胞で産出されるが、Zollinger-Ellison 症候群におけるガストリノーマでも過剰に産出される。この異所性腫瘍で興味深い点は、まず第一にその好発部位が、本来ガストリンの産生組織でない膵島であるという事、第二に腫瘍組織内における主要な分子型の違いや、セクレチン及びグルカゴン負荷におけるガストリンの paradoxical response 等、正常組織とは異なる分泌動態をとる事である。我々はガストリンの生合成機構を知り、正常胃粘膜と Zollinger-Ellison 症候群におけるガストリン遺伝子の発現の差を見るため、まずヒトガストリン遺伝子の全構造を解明し、次いで両組織におけるこの遺伝子の違いをDNA及びRNAレベルで解析した。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1) ヒトガストリン遺伝子の全構造

ガストリン全駆体 cDNA を用い、Lawn のライブラリーからヒトガストリン遺伝子をもつ λ ファージ (λ HG 6-2) を単離し、M13法で塩基配列を決定した。ヒトガストリン遺伝子は全長3639bpで、3つのエクソンより構成されている。各々の長さは、60bp, 216bp, 192bpで、蛋白をコードする領域はそのうち下流の2つのエクソンに含まれている。第一、第二イントロンは、各3041bp, 130bpであった。第一エクソンの5'端より上流の25bpの所にはTATAbox、さらに60bp上流にCATboxと思われる配列が存在している。ガストリン mRNA の転写開始点の決定は、Burkeの方法で作成したSingle strand probeを用いたS I マッピング法で行ったが、第一エクソンの3'端から上流、60bp, 57bp, 55bpの三

か所である事が明らかとなった。

ヒトガストリン遺伝子の著しい特徴は、遺伝子内、及びその周辺部に多数の Alu-I 配列を持つ事で、第一エクソン上流2.8kb 内に3個、3 kb の第一イントロンに5個、第三エクソン下流500bp 内に1個、合計6.8kb 内に9個の Alu-I 配列の存在が認められたが、このような集積例は他に  $\beta$ -tubulin 遺伝子で報告されているにすぎない。

## 2) ガストリノーマにおけるヒトガストリン遺伝子の発現

正常層粘膜及びガストリノーマからRNAを抽出し、前者からのRNAは、さらに oligo (dT) カラムで polyRNA として精製した。両RNAを用いて Northern Blotting を行ったところ、ガストリノーマにおいては、未精製のRNAでも強いバンドが検出されるものの、mRNA としての長さ自体は差がなかった。ガストリノーマRNAを用いた S I マッピングでも、mRNA の転写は正常胃粘膜と同じ三か所から開始しており、両組織間で差が認められなかった。

## 3) ガストリノーマにおけるガストリン遺伝子のDNA再編成の有無

両組織からDNAを抽出し、数種の制限酵素で切断したDNA断片を用いて、Genomic Southern Blotting を行った。その結果、両組織のDNAとも全く同じ泳動パターンをとっており、既知の制限酵素地図との比較から、3.6kb のガストリン遺伝子を中心に、上流8 kb、下流6.5kb の合計18kb の範囲内では、遺伝子の増幅や、エンハンサー領域の挿入等のDNA再編成が起っていない事が明らかとなった。

### 〔総括〕

ヒトガストリン遺伝子の全塩基配列を初めて報告した。この遺伝子は3つのエクソンから構成されている事が明らかとなり、三か所の mRNA 合成開始点が同定された。又、遺伝子内及び周辺部に多数の Alu-I 配列の集積を持つ事は、この遺伝子の著しい特徴であった。

ガストリノーマと正常胃粘膜との比較では、mRNA レベルでは量的な差のみ認められ、DNA レベルにおいても、ガストリン遺伝子を中心に、少なくとも18kb 内では変化がなかった。この事は、ガストリノーマにおけるガストリン異常産出機序として、正常遺伝子が、腫瘍細胞内の遺伝子発現制御機構の破綻により異常な活性化をうけ、発現するに至った事を示唆している。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は、主要な消化管ホルモンの一つであるガストリンについて、ヒトにおける遺伝子の全塩基配列を初めて決定し、この遺伝子が3つのエクソンから構成されていることを明らかにした。またガストリン遺伝子の著しい特徴として、遺伝子内および周辺部に反復配列 Alu-I の高度な集積があることを見いだした。次に、ガストリンの本来の産生臓器である胃と、ガストリン産生腫瘍を遺伝子レベルで比較し、両組織間で、ガストリン遺伝子は、その周辺部を含め18kb に亘ってDNA上の変化がないこと、mRNA の合成開始点も同一で、同じプロモーターを用いていることを明らかにした。このような、本来のホルモン産出臓器とホルモン産出腫瘍の間で、そのホルモンの遺伝子をDNA、RNAで厳密に対

比した研究はわずかにラットインスリノーマについて見るのみである。以上の業績は学位に値すると考えられる。