

Title	Isolation and characterization of a novel gene deleted in DiGeorge syndrome.
Author(s)	倉橋, 浩樹
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39561">https://hdl.handle.net/11094/39561</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	倉 橋 浩 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 2 1 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 1 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Isolation and characterization of a novel gene deleted in DiGeorge syndrome. (DiGeorge 症候群において欠失している遺伝子の単離とその解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 田 伸 太 郎 (副査) 教 授 高 井 新 一 郎 教 授 辻 本 賀 英

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

DiGeorge 症候群 (DGS) は胸線欠損, 副甲状腺欠損, 心奇形, 異常顔貌を呈する先天奇形症候群である。DGS では共通して染色体 22q11 の欠失がみられ, 同部位に位置する遺伝子の欠失が原因とされている。また, 近年 DGS 以外にも円錐動脈幹異常顔貌児などでも同部位の欠失が報告され, DGS とその近縁疾患は隣接遺伝子症候群をなすと考えられている。これら疾患群の発症機構を分子生物学的に解明するために, 22q11 の DGS 共通欠失領域に位置する遺伝子の単離を試みた。

### 【方法ならびに成績】

#### 1. DGS 共通欠失領域内のゲノムコンテイングの作製

マイクロディセクション法によりヒト染色体 22q11 を切断し, 制限酵素切断後リンカーに接続し, PCR 法により増幅したのちマイクロクロンライブラリーを作製した。そして雑種細胞によるマッピングや DGS 患者における dosage 解析にて, DGS 共通欠失領域に位置するクロンを選別した。その結果, 3 種のマイクロクロン (mc512, mc590, mc668) を単離し得た。これらのうち 2 種類 (mc512, mc668) は DGS 共通欠失領域に特異的な反復配列を含むものであった。

これらのマイクロクロンを用いてヒトゲノムコスミドライブラリーをスクリーニングし, さらに遺伝子歩行することにより, 2 種類のコスミドコンテイングを構築した (コンテイング 1 : mc668 由来, コンテイング 2 : mc512, mc590 由来)。FISH 法によりこれらのコスミドが DGS 患者の共通欠失領域内にあることを確認した。また, FISH 法にて, これらのコンテイングの位置関係はセントロメアー-コンテイング 1-コンテイング 2-テロメアと判明した。

#### 2. DGS 共通欠失領域内の遺伝子の単離

こうして単離した DGS 共通欠失領域内に位置するコスミドクロンから, cDNA の単離を試みた。ダイレクトセレクト法を用いて行い, その結果, ヒト胎児脳 cDNA ライブラリーから, コンテイング 1 内の 1 種のコスミドとハ

イブリダイズする4個のPCR産物を得た。そのうち2個がDGS共通欠失領域由来のものであり、他の2個はそれらと相同な他の染色体由来のものであった。共通欠失領域内に位置するPCR産物を用いてcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより全長4.3kbのcDNAを得た。ノザンプロット解析ではヒト胎児の心臓、脳、肺、肝臓、腎臓にて発現を認めた。このcDNAの全塩基配列を決定したところ、552アミノ酸からなる62kDの蛋白をコードしている未知の遺伝子であった。この遺伝子のコードしている蛋白はショウジョウバエのホメオボックス遺伝子の1つである *fushitarazu* 遺伝子の抑制遺伝子である *tramtruck* と部分的に相同性があった。また、塩基法ドメインとそれに続くロイシンジッパー様ドメインを持ち、他にもSPXXモチーフなどのDNA結合蛋白の性質を備え、何らかの転写因子として作用する蛋白と考えられた。この遺伝子は、8列のDGSと円錐動脈幹異常顔貌患者のうち7例で欠失していた。欠失を認めなかった1例は、DGS共通欠失領域内のどのDNAマーカーを用いても欠失が認められない症例であった。最小共通欠失領域を決定している細胞株ではこの遺伝子は欠失していなかった。

#### 【総括】

1. DGS共通欠失領域内に2種のゲノムコンテイングを構築した。これらのコンテイングはそれぞれこの領域に特異的な反復配列を有しており、この領域に高頻度に発生する染色体欠失の成因に関与している可能性があると思われる。
2. DGSならびにその近縁疾患で欠失している遺伝子を単離した。この遺伝子は胎児諸臓器にて発現している転写因子をコードしており、DGS最小共通欠失領域には位置していなかったが、大部分の症例で欠失していた。これら疾患群が隣接遺伝子症候群をなすと仮定すれば、この遺伝子の haploinsufficiency は、これら疾患群の表現型に一部関与しているものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

DiGeorge症候群(DGS)では染色体22q11の欠失が共通してみられる。また、他の心奇形と顔貌異常を伴う症候群でも同部位の欠失がみられ、DGSとその近縁疾患の発生機構の解明は分子遺伝学的に重要な問題である。本研究は、複数のDGS患者における共通欠失領域に位置するゲノム断片を単離し、それらを用いてこの領域のゲノムコンテイングを作製し、その後、その領域から実際に発現している遺伝子を単離し、その性質を調べたものである。このコンテイングにはこの領域に特異的な反復配列が含まれており、この領域に染色体欠失が高頻度に発生することを説明する興味深い知見である。また、単離された遺伝子は胎児諸臓器にて発現している転写因子をコードしており、大部分の症例で欠失していることから、この遺伝子がこれら疾患群の表現型に関与している可能性がある。これらの事実から本研究は、DGSとその近縁疾患の発生機構を分子遺伝学レベルで解析することに大きく貢献するものと思われる。また、これらの知見はDGSとその近縁疾患の発生機構の分子遺伝学的解明のみならず、発生学的にもDGSとその近縁疾患の罹患臓器の胎生期における発生機構の解明にも大きく貢献するものと思われる。また、臨床医学の分野においても、単離したゲノムクローンをを用いた患者の遺伝子診断、保因者診断、そして胎内診断にも有用であり、これらのことより本研究は博士(医学)の学位授与に値するものと考えられる。