



Title	Splicing patterns of type XI collagen transcripts act as molecular markers for osteochondrogenic tumors
Author(s)	松井, 好人
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40758">https://hdl.handle.net/11094/40758</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">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	松 井 好 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 13756 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 10 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Splicing patterns of type XI collagen transcripts act as molecular markers for osteochondrogenic tumors (骨・軟骨形成性腫瘍における XI 型コラーゲン遺伝子のスプライシングパターン)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 越智 隆弘
	(副査) 教 授 高井 義美 教 授 辻本 賀英

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

骨・軟骨形成性腫瘍は基質成分に豊富な腫瘍であるが、その基質の性質はいまだよく解明されていない。XI型コラーゲン分子は軟骨基質の形成と維持に重要な役割を果たしている構造蛋白質で、軟骨では  $\alpha$  1 鎖,  $\alpha$  2 鎖,  $\alpha$  3 鎖より構成されるヘテロ 3 量体である。これらの遺伝子は、コラーゲン細線維形成の調節作用を有する N- プロペプチドをコードする領域において、組織特異的かつ発生や分化のステージ特異的な alternative splicing による発現調節を受けており、その制御が細胞の軟骨形質への分化に密接に関係していることが示唆されている。本研究では骨・軟骨形成性腫瘍の形質の一端を明らかにする目的で、ヒト正常組織および腫瘍における XI 型コラーゲン遺伝子のスプライシングパターンを解析した。

#### 【方法ならびに成績】

正常組織（軟骨、皮膚、腱、骨格筋、脳、心臓、腎臓、肝臓、胎盤）および骨・軟骨形成性腫瘍（骨軟骨腫、内軟骨腫、軟骨芽細胞腫、軟骨肉腫、骨肉腫）、その他の腫瘍（脊索腫、横紋筋肉腫、悪性神経鞘腫）の組織を材料に用いた。超遠心により total RNA を抽出し、RT-PCR 法により N- プロペプチドの alternative splicing を受ける領域を増幅した。増幅産物を電気泳動で分離し、各組織における種々の長さの mRNA の発現パターン（スプライシングパターン）を比較した。さらにオリゴプローブを用いた Southern Hybridization により各 mRNA に含まれるエクソンを同定した。

正常軟骨では alternative splicing を受けた短い mRNA (軟骨型) が  $\alpha$  1 鎖,  $\alpha$  2 鎖,  $\alpha$  3 鎖ともに発現していた。腱や筋肉その他の種々の非軟骨組織では、XI型コラーゲン各鎖の発現レベルは低く、あるいはあっても主に長い mRNA (非軟骨型) であり、その発現には軟骨・非軟骨組織に特有なスプライシングパターンが存在した。一方種々の骨・軟骨形成性腫瘍での XI 型コラーゲン各鎖の発現パターンは多様であったが、その他の腫瘍では XI 型コラーゲン遺伝子はほとんど発現していなかった。良性腫瘍では典型的な硝子軟骨基質を形成する骨軟骨腫で、XI型コラーゲンの各鎖遺伝子発現はともに軟骨型のスプライシングパターンを示したのに対し、軟骨基質成分に乏しい軟骨芽細胞腫では  $\alpha$  1 鎖は非軟骨型で、 $\alpha$  2 鎖および  $\alpha$  3 鎖の発現レベルは低かった。ときに低悪性度の軟骨肉腫との鑑別を要することのある内軟骨腫では  $\alpha$  1 鎖と  $\alpha$  3 鎖は軟骨型と非軟骨型の両者、 $\alpha$  2 鎖は軟骨型のパターンを示した。悪性腫瘍では軟骨肉腫で  $\alpha$  1 鎖は非軟骨型、 $\alpha$  2 鎖は軟骨型という正常組織にはない発現パターンが認められ、 $\alpha$  3 鎖は悪

性度が高くなるにつれて軟骨型から非軟骨型へと移行していた。骨肉腫では軟骨形成性骨肉腫では $\alpha$ 1鎖は非軟骨型、 $\alpha$ 2鎖は軟骨型と非軟骨型の両者、 $\alpha$ 3鎖は軟骨型であり、骨形成性骨肉腫では非軟骨型の $\alpha$ 1鎖のみが発現していた。

### 【総括】

XI型コラーゲン遺伝子は正常組織のみならず腫瘍組織においても alternative splicing による発現調節を受けており、そのスプライシングパターンは一つには腫瘍の軟骨形質の程度を反映すると同時に、他方では腫瘍の悪性度とも相関していた。このことは alternative splicing による発現制御が、正常軟骨細胞の発生や分化と同様に骨・軟骨系腫瘍細胞の発生や分化にも関与していることを意味しており、XI型コラーゲン遺伝子のスプライシングパターンは骨・軟骨形成性腫瘍における分子マーカーとして用いられることが示された。以上のように、腫瘍細胞の產生する基質成分の性質は、腫瘍により分子レベルで異なっており、その解析は腫瘍形質を解明するうえで有効であると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、RT-PCR-Southern blot 法を用いて、ヒト正常組織および骨・軟骨形成性腫瘍における XI型コラーゲン遺伝子の発現解析を行ったものである。その結果、XI型コラーゲン遺伝子は正常組織のみならず腫瘍組織においても alternative splicing による発現調節を受けており、そのスプライシングパターンは一つには腫瘍の軟骨形質の程度を反映すると同時に、他方では腫瘍の悪性度とも相関することが明らかとなった。このことは alternative splicing による発現制御が、正常軟骨細胞の発生や分化と同様に骨・軟骨系腫瘍細胞の発生や分化にも関与していることを意味しており、XI型コラーゲン遺伝子のスプライシングパターンは骨・軟骨形成性腫瘍における分子マーカーとして用いられることが示された。以上のように、本論文は骨・軟骨形成性腫瘍の形質解明に多大な貢献をし、学位に値するものと認める。