

Title	Isolation and Characterization of a Novel Human Lung-specific Gene Homologous to Lysosomal Membrane Glycoproteins 1 and 2 : Significantly Increased Expression in Cancers of Various Tissues
Author(s)	尾崎, 浩一
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41110
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 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	お尾 ぎ崎 こういち
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 14788 号
学位授与年月日	平成11年3月25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 Human Lung-specific Gene Homologous to Lysosomal Membrane Glycoproteins 1 and 2; Significantly Increased Expression in Cancers of Various Tissues (リソソーム膜糖タンパクと相同性を有する新規ヒト肺特異的遺伝子の単離および特徴解析; 種々の癌における発現上昇)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 祐輔 (副査) 教授 辻本 賀英 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

【目的】

ヒトにおいて遺伝子は約10万種類存在するといわれており、これらの遺伝子がどの細胞でその程度発現するかによって、各臓器、すなわち心臓、肺、肝臓、脳などが正常に発達し、その機能が維持されていくと考えられ、特定の細胞、臓器においてのみ発現している遺伝子(臓器特異的遺伝子)は、その臓器の形成や細胞の特異的機能維持に非常に重要である。したがって、臓器特異的遺伝子に異常がおこると、各臓器での機能不全につながる可能性は高く、その程度が重篤であればなんらかの疾患を引き起こすことになる。本研究では、新規臓器特異的遺伝子の異常と疾患との関連を探究することを目的に、Differential mRNA display (DD) 法により新規臓器特異的遺伝子を網羅的に同定し、順次、染色体局在の決定、全長遺伝子の単離を行った。これらの中から、ヒト正常肺に特異的に発現する遺伝子 TSC403を同定、単離した。さらに、TSC403遺伝子の構造上の特徴、染色体局在から、この遺伝子が種々の癌の進展に関連する可能性を考え、癌における発現異常を検索した結果、食道癌、大腸癌、ファロピアン管癌、卵巣癌、乳癌、肝臓癌等においてTSC403遺伝子が異常発現することを発見した。

【方法ならびに成績】

13種類のヒト臓器(脳、肺、肝臓、膵臓、胃、脾臓、乳腺、前立腺、心臓、骨格筋、腎臓、内臓脂肪)より抽出した mRNA から cDNA を合成した後、DD 法を行い、肺特異的に発現する PCR 産物 (TSC403 PCR 産物) を同定した。この PCR 産物をシーケンスし、GenBank/EMBL データベースに対してホモロジーサーチを行ったところ、この時点では既知の遺伝子との相同性は認められなかった。この遺伝子の DD における発現がアーティファクトでないことを確認するために16種類の正常臓器 mRNA をプロットしたメンブレンを行い、TSC403 PCR product をプローブとして、ノーザン解析を行った結果、3.3kb の転写産物が正常肺特異的に存在することが判明した。TSC403 遺伝子の全長 cDNA を単離するために、TSC403 PCR product をプローブとして、ヒト肺 mRNA より調整した cDNA ライブラリーをスクリーニングした結果、約 3 kb のインサートを持つクローンを同定した。このインサートの全シーケンスを決定したところ、TSC403 遺伝子は全長 3126 ヌクレオチドからなり、1248 ヌクレオチドのオープンリーディングフレーム (ORF) を持ち、この ORF は 416 アミノ酸のタンパク質 (TSC403 タンパク) をコードしていると考えられた。TSC403 タンパクは分子量約 44 kDa で、その構造上には数個の N-グリコシル化部位、また N 末端にはシ

グナルペプチド、C末端にはトランスメンブレンドメインを持っていることが推測された。FASTA プログラムにより、TSC403タンパクをホモロジーサーチした結果、高転移性のマウス大腸癌細胞株において発現が上昇し、癌細胞膜上に存在（正常細胞、非転移性の癌細胞においてはリソソーム膜に存在する）することにより、血管内皮細胞上の ELAM-1（Endothelial adhesion molecule-1）との結合を介して癌転移を促進することが知られる糖タンパク Lysosome membrane glycoproteins 1, 2（Lamps-1, 2）と30%のホモロジーを有していることが明らかとなった。FISH 法による染色体局在の決定を行ったところ、種々の扁平上皮癌において遺伝子増幅が報告されている第3染色体Q27に TSC403遺伝子が存在することが判明した。このような構造上の特徴および染色体位置から TSC403遺伝子が癌の発生に関連している可能性を考え、種々の癌における TSC403遺伝子の発現異常をノーザン法および RT-PCR 法により検討した。その結果、肺以外の正常臓器ではほとんど発現していない TSC403遺伝子が、食道、大腸、直腸、尿管、胃、乳、卵巣、ファロピアン管、甲状腺、耳下腺の癌において発現上昇していることが明らかになった。

【総括】

Differential display 法により新規ヒト肺特異的遺伝子 TSC403を同定、単離した。予想される TSC403タンパク質は癌転移関連タンパク質 Lamps とホモロジーがあること、および TSC403遺伝子が扁平上皮癌において遺伝子増幅の認められる染色体領域に位置していることを同定した。これらのことより TSC403の異常が癌の進展と関連している可能性を考え、種々の癌における発現異常を検索し、実際に発現上昇が認められることを明らかにした。癌進展のステージと TSC403遺伝子の発現との相関は明らかではないが、TSC403タンパクのホモロジーから考えると、Lamps と同様のメカニズム（癌細胞と血管皮細胞との接着を介する）により癌の転移に関連していることが推察することができる。TSC403遺伝子（タンパク）の生理機能については不明であるが、正常肺での特異的および豊富な発現から、正常肺の機能維持にも重要な遺伝子であることが推察できる。

論文審査の結果の要旨

本論文において、ヒト組織の形成や細胞の特異的機能維持に重要な新規組織特異的遺伝子を多数同定したことは他に例がなく、非常に価値の高いことだと考えられる。さらにこれらの遺伝子の特徴を詳細に解析し、ヒト癌の発生、進展に関連する可能性の高い一つの新規肺組織特異的遺伝子を選定した。種々の実験を重ねた結果、この新規遺伝子が多種の癌組織で発現上昇していること、さらにこの遺伝子の発現異常が細胞の癌化を誘導することを見出したことは世界の研究と比較しても独創的で画期的である。

以上の点により学位論文に値するものと認める。