



| | |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | Prostate-Specific Transcription Factor hPSE is Translated Only in Normal Prostate Epithelial Cells |
| Author(s) | 野澤, 昌弘 |
| Citation | 大阪大学, 2000, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/41830 |
| 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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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 | 野 澤 昌 弘 の ぎょ まさ ひろ |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 1 5 3 1 8 号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年3月24日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻 |
| 学位論文名 | Prostate-Specific Transcription Factor hPSE is Translated Only in Normal Prostate Epithelial Cells (前立腺特異的転写因子hPSEは正常前立腺上皮細胞においてのみ翻訳される) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 西宗 義武 教授 青笹 克之 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

癌化は細胞の増殖や分化を制御する機構に異常が生じることによって起こりうる。したがって、細胞の増殖や分化に関与する遺伝子の発現を制御する転写因子の発現異常は細胞の癌化に密接に関係している。我々は、これまでにヒト前立腺癌細胞株 PC-3 から新規の Ets ファミリー遺伝子である *hPSE* をクローニングした。Ets ファミリーは転写因子として、発生、細胞周期制御および細胞増殖に関与する遺伝子の転写を調節することが報告されている。*hPSE* mRNA はヒト前立腺上皮細胞特異的に発現していることから、*hPSE* はヒト前立腺上皮細胞の分化あるいは増殖の制御に重要な役割を果たしている可能性が高い。そこで、細胞内で実際に機能を有する蛋白質レベルでの発現を調べ、*hPSE* 発現と癌化との関係を検討した。

【方法ならびに成績】

- 1) pGEX-2 T vector system により GST-fusion *hPSE* protein を精製し、これを用いて New Zealand White rabbits を免疫して、抗 *hPSE* 抗血清を得た。
- 2) 膀胱癌手術検体から得たヒト正常前立腺組織において、抗 *hPSE* 抗血清を用いて免疫組織化学染色を行ったところ、前立腺上皮細胞特異的に *hPSE* 蛋白質の発現を認めた。
- 3) ヒト前立腺癌細胞株 PC-3、LNCaP および DU145 からそれぞれ total RNA および蛋白質を調整し、*hPSE* mRNA および *hPSE* 蛋白質の発現について、Northern blot analysis および Immunoblot analysis を行った。その結果、PC-3 および LNCaP において、*hPSE* mRNA は強発現していたが *hPSE* 蛋白質発現は認められなかった。すなわち、ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 および LNCaP では *hPSE* 転写産物の翻訳が抑制されていると考えられた。一方、DU145 では mRNA レベルおよび蛋白質レベルともに *hPSE* 発現を認めなかった。
- 4) ヒト前立腺手術検体において同様に Northern blot analysis および Immunoblot analysis を行ったところ、全ての検体において *hPSE* mRNA および *hPSE* 蛋白質の発現を認めた。
- 5) ヒト前立腺手術検体において細胞レベルでの *hPSE* 発現を調べるために、*in situ* hybridization および免疫組織化学染色を行った。その結果、*hPSE* mRNA は正常前立腺上皮細胞および前立腺癌細胞において同様に発現していたが、蛋白質レベルでは正常前立腺上皮細胞においてのみ発現が見られ、前立腺癌細胞では発現を認めなかった。以上のことから、*hPSE* 転写産物は正常前立腺上皮細胞においてのみ翻訳されると考えられた。

6) *hPSE* の翻訳制御に関与する領域を調べるため、*hPSE* cDNA の 5'-UTR あるいは 3'-UTR に種々の欠失を加えた deletion mutants を作製し、発現ベクターに組込んで、293細胞に transfect した。Transfectants における各 construct の mRNA および *hPSE* 蛋白質の発現を Northern blot analysis および Immunoblot analysis にて調べたところ、mRNA 発現レベルには差を認めなかったが、*hPSE* 蛋白質発現に関しては、5'-UTR の長さあるいは 3'-UTR の存在に対応して、発現量に有意差を認めた。すなわち、*hPSE* cDNA の 5'-UTR の 5' 端から 221bp および 3'-UTR に含まれる配列が *hPSE* の翻訳制御に関与していることが示唆された。

【総括】

hPSE はヒト前立腺上皮細胞において特異的に転写される新規の Ets family gene である。*hPSE* 転写産物は正常前立腺上皮細胞においてのみ翻訳される。このことは、*hPSE* が正常前立腺上皮細胞としての特質を決定することに関与している可能性を示唆するものである。今後、前立腺癌細胞に *hPSE* 蛋白質を強制発現させることによって正常前立腺細胞としての特質を回復させることができれば、前立腺癌の新たな治療法の開発につながる事が期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は Ets family に属する新規の転写因子 *hPSE* の発現局在および発現制御機構について詳細に解析したものである。*hPSE* が翻訳制御を受けていることを実際の組織上において細胞レベルで明らかにした。すなわち、*in situ* hybridization 法および免疫組織化学染色法を用いて、*hPSE* mRNA は正常前立腺上皮および前立腺癌で発現しているにもかかわらず、*hPSE* 蛋白質は癌細胞では発現を認めないことを示した。さらに、*hPSE* 転写産物の 5' および 3' UTR が翻訳調節に役割を果たしていることを示した。

本研究結果は他の Ets 蛋白質が器官発生および癌発生において広範に関与しているのに対し、前立腺特異的であるという点で新しく、また、前立腺癌発生を理解する上で重要である。また、癌細胞において発現が負に制御される蛋白質で癌化のマーカーとなりうるものはほとんど知られておらず、その点でも本研究は貴重と言える。よって、本研究は学位に値するものと考えられる。