The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cloning and expression of the mouse Pse gene encoding a novel Ets family member
Author(s)	山田, 直子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41858
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 11 】

氏　　名	山　田　直　子（やま だ なお こ）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　15026　号
学位授与年月日	平成12年1月4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　生理系専攻
学 位 論 文 名	Cloning and expression of the mouse *Pse* gene encoding a novel Ets family member **(新規 Ets ファミリーメンバーのマウス *Pse* 遺伝子のクローニングと発現)**
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授　西宗　義武 (副査) 教 授　北村　幸彦　　教 授　奥山　明彦

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

臓器の発生過程では、細胞増殖、細胞分化、細胞特異的機能獲得といった多くの現象は、様々な遺伝子の時間的、空間的に調節された発現によって制御されている。我々は臓器形成における遺伝子発現調節を解析するために、Ets ファミリーメンバーに着目した。

Ets ファミリー遺伝子は転写因子をコードしており、その DNA 結合領域(ETS ドメイン)は線虫からショウジョウバエやヒトを含む後生動物門全体でよく保存されている。ショウジョウバエでは発生過程の種々の段階において重要な役割を果たす Ets ファミリーメンバー(E74、Pointed P2、yan、D-elg)が知られているが、ヒトやマウスでは造血系特異的に機能するもの以外ほとんど見つかっていない。そこで臓器特異的に発現する Ets 転写因子の機能を知るため、我々がクローニングしたヒト前立腺特異的 Ets 転写因子 hPSE (human Prostate Specific Ets) のマウスホモローグを単離し、解析を行った。

[方法ならびに成績]

1．hPSE のマウスホモローグの単離　ヒト/マウス間で比較的相同性が高いことが予想される ETS ドメイン内でプライマーを設定しマウスゲノム DNA を用いて PCR を行い、マウス Pse (mPse) ゲノム断片を得た。それをプローブとしてマウスゲノミックライブラリーをスクリーニングし、ゲノムクローンを得た。得られたゲノム DNA をプローブとしてノーザンブロット解析を行ったところ、前立腺と結腸で約 2 Kb の mRNA の強い発現が認められた。マウス結腸の cDNA ライブラリーをスクリーニングして、mPse cDNA 全長をクローニングし、cDNA からアミノ酸配列を予想したところヒト/マウス間で全体を通して86%の同一性があり、ETS ドメインでは98.8%の同一性があった。さらにゲノム DNA の解析により mPse 遺伝子は hPSE と同じく 6 個のエクソンからなり、エクソン－イントロンのつなぎ目はヒト/マウスで完全に保存されていた。以上の結果から mPse 遺伝子は hPSE のマウスホモローグであると結論した。

また、ETS ドメインについて他の Ets ファミリーとの比較を行ったところ、ショウジョウバエ dets4 と76.6%と高

い同一性を示した。このように種を越えて保存されていることから、PSE の機能的重要性が示唆される。

2．ノーザンハイブリダイゼイション解析　各臓器における mPse の発現を調べるためにノーザンハイブリダイゼイション解析を行った結果、マウスでは前立腺と腸で発現していた。さらに詳しい解析を行った結果、生殖系では前立腺の他に凝固腺、貯精能、精巣、卵管において発現していたが、卵巣、子宮では発現していなかった。消化器系では胃から結腸にかけて発現が見られたが、小腸では弱く、盲腸から結腸にかけて発現は増大していた。

3．in situ ハイブリダイゼイション解析　成体マウスの前立腺と結腸のどの組織で mPse が発現しているかを調べるために、3′-noncoding 領域のプローブを用い in situ ハイブリダイゼイション解析を行った。その結果、前立腺、結腸ともに上皮細胞で発現することが確認された。また間質などの他の組織での発現は見られなかった。

Ets ファミリーメンバーは一般的に転写因子として機能することが知られているが、以下の実験により mPse の転写因子としての機能を調べた。

4．DNA 結合能の解析　mPse の DNA への特異的結合を調べるためにゲルシフトを行った。MASPIN 遺伝子は前立腺上皮で発現する癌抑制遺伝子であり、プロモーターの上流の制御領域に ETS 結合配列を持つ。in vitro transcription-translation により作成した mPse タンパク質は ETS 結合配列特異的に結合した。

5．転写活性能の解析　mPse の転写活性能を調べるために co-transfection 解析を行った結果、mPse はヒト腎臓培養細胞293T において MASPIN 遺伝子のプロモーターを ETS 結合配列を介して活性化した。またマウス初代培養細胞を用いた場合、前立腺細胞では mPse は転写活性化能を示したが、肝臓細胞では示さなかった。

［総括］

新規 Ets ファミリーメンバーである PSE のマウスホモローグである mPse をクローニングした。mPse は多くの組織で恒常的に発現する他の Ets メンバーとは異なり消化器系および生殖器付属器官の上皮細胞に特異的に発現していることが明らかとなった。さらに mPse は細胞型特異的に MASPIN 遺伝子の転写を ETS 結合配列を介して制御していることが明らかとなった。

以上の結果より、mPse は特定の臓器の形態形成および機能維持に関与する転写因子であることが推測される。

論文審査の結果の要旨

Ets ファミリーに属する転写因子群は、細胞増殖、細胞分化、発生、癌化等に関与する多くの遺伝子の転写調節を行っていると考えられている。ヒト PSE 遺伝子（Prostate Specific Ets）は、当研究室で単離した新規の Ets 転写因子であり、Ets ファミリーメンバーとしては珍しく臓器特異的に発現するタイプである。本研究では臓器特異的に発現する Ets 転写因子の機能を解明するため、PSE のマウスホモローグ（mPse）をクローニングし、発現と転写因子としての転写活性化能を調べた。

遺伝子の一次構造の解析から、PSE は種を越えて高度に保存されていることを明らかにした。mPse はマウスでは生殖系および消化器系の上皮細胞特異的に発現しており、ETS ドメインを介して塩基配列特異的に DNA に結合し、前立腺特異的発現をする癌抑制遺伝子である MASPIN の転写を活性化した。また、この転写活性は前立腺ではみられるが、肝臓ではみられなかった。従って mPse はそれ自身の遺伝子発現も転写因子としての機能も臓器特異的であることが明らかとなった。以上の研究成果は学位に値するものと考えられる。