



Title	MAGE-E1, a new member of Melanoma-associated antigen gene family and its expression in human glioma
Author(s)	佐々木, 学
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43779
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

氏 名	佐々木 学
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 4 8 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成13年 8 月 8 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	MAGE-E1, a new member of Melanoma-associated antigen gene family and its expression in human glioma. (メラノーマ関連腫瘍抗原遺伝子ファミリーの新規遺伝子 MAGE-E1 とそのヒトグリオーマにおける発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 峰 俊 樹 (副査) 教 授 青 笹 克 之 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

本研究では、悪性グリオーマに強く発現している遺伝子を検索することによりグリオーマに特異的かつ強く発現を示す Melanoma-associated antigen gene (MAGE) family に高いホモロジーを持つ新規遺伝子 MAGE-E1 を発見し、MAGE-E1 の cDNA クローニングとその遺伝子発現分布の解析を行った。

【方法ならびに成績】

悪性グリオーマに強く発現している遺伝子を検索するために Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 法を用いてグリオブラストーマの摘出サンプルとヒトアストロサイトの培養細胞に発現している遺伝子の解析を行った。得られた SAGE プロファイルと比較することにより、グリオーマで特異的かつ強く発現している遺伝子を検索し、MAGE と呼ばれる腫瘍抗原をコードする遺伝子ファミリーに高いホモロジーを示す未知の遺伝子 MAGE-E1 を発見した。Cancer Genome Anatomy Project で公開されている SAGE プロファイルを検索したところ MAGE-E1 と同じ配列の遺伝子を見出し、その発現は正常脳やアストロサイトの培養細胞に比べてグリオブラストーマにおいて4倍以上であり、本研究の結果と一致していた。リアルタイム定量的 RT-PCR では、MAGE-E1 の発現は4つのグリオブラストーマ摘出サンプルにおいてアストロサイトの2.5-15倍であった。

さらに 5'-rapid amplification of cDNA ends (5'-RACE) 法を用いることにより MAGE-E1 mRNA の全長のクローニングに成功した。これにより alternative splice 産物と考えられる3つの variant が得られた (それぞれ MAGE-E1a、E1b、E1c と命名)。予想される MAGE-E1 蛋白の構造は MAGE-E1a、E1b 蛋白は MAGE-conserved domain を有するが、MAGE-E1c 蛋白にはこのドメインが存在しないことが分かった。MAGE-E1a、E1b 蛋白は他の MAGE 蛋白と非常によく似た構造をしており、MAGE-conserved domain では40%以上の高いホモロジーがみられた。

MAGE-E1 は正常組織では脳と卵巣にのみ発現しており、この発現パターンは従来報告されていた MAGE ファミリーの発現パターンとは全く異なっていた。また、癌における発現を検討したところ、MAGE-conserved domain を欠く MAGE-E1c は他の MAGE と同様に他臓器の癌でも発現していたが、MAGE-conserved domain を有する MAGE-E1a、E1b は悪性グリオーマで特異的に発現していることが分かった。

【総括】

MAGE 蛋白を用いたワクチン療法で腫瘍の縮小効果が見られたという報告や、癌患者の血清より ELISA 法で MAGE 蛋白が検出できるという報告から考えて、これらの蛋白とよく似た構造を持つ MAGE-E1 蛋白が悪性グリオーマの治療や診断に応用できる可能性が高い。また、MAGE は増殖期にある細胞には発現するが分化した細胞には発現していないという報告もあり、グリオーマにおいて MAGE-E1 の高発現はグリオーマの増殖に影響を及ぼしている可能性があり、その増殖機構を解明する一助となると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、悪性グリオーマに強く発現している遺伝子を検索するために Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) 法を用いてグリオブラストーマの摘出サンプルとヒトアストロサイトの培養細胞に発現している遺伝子の解析を行った。得られた SAGE プロファイルと比較することにより、グリオーマで特異的かつ強く発現している遺伝子を検索し、Melanoma-associated antigen gene (MAGE) と呼ばれる腫瘍抗原をコードする遺伝子ファミリーに高いホモロジーを示す未知の遺伝子を発見した (MAGE-E1 と命名)。Cancer Genome Anatomy Project で公開されている SAGE プロファイルを検索したところ MAGE-E1 と同じ配列の遺伝子を見出し、その発現は正常脳やアストロサイトの培養細胞に比べてグリオブラストーマにおいて 4 倍以上であり、本研究の結果と一致していた。リアルタイム定量的 RT-PCR では、MAGE-E1 の発現は 4 つのグリオブラストーマ摘出サンプルにおいてアストロサイトの 2.5-15 倍であった。

さらに 5' -rapid amplification of cDNA ends (5' -RACE) 法を用いることにより MAGE-E1 mRNA の全長のクローニングに成功した。これにより alternative splice 産物と考えられる 3 つの variant が得られた (それぞれ MAGE-E1a、E1b、E1c と命名)。予想される MAGE-E1 蛋白の構造は MAGE-E1a、E1b 蛋白は MAGE-conserved domain を有するが、MAGE-E1c 蛋白にはこのドメインが存在しないことが分かった。MAGE-E1a、E1b 蛋白は他の MAGE 蛋白と非常によく似た構造をしており、MAGE-conserved domain では 40% 以上の高いホモロジーがみられた。

MAGE-E1 は正常組織では脳と卵巣にのみ発現しており、この発現パターンは従来報告されていた MAGE ファミリーの発現パターンとは全く異なっていた。また、癌における発現を検討したところ、MAGE-conserved domain を欠く MAGE-E1c は他の MAGE と同様に他臓器の癌でも発現していたが、MAGE-conserved domain を有する MAGE-E1a、E1b は悪性グリオーマで特異的に発現していることが分かった。

MAGE 蛋白を用いたワクチン療法で腫瘍の縮小効果が見られたという報告や、癌患者の血清より ELISA 法で MAGE 蛋白が検出できるという報告から考えて、これらの蛋白とよく似た構造を持つ MAGE-E1 蛋白が悪性グリオーマの治療や診断に応用できる可能性が高い。また、MAGE は増殖期にある細胞には発現するが分化した細胞には発現していないという報告もあり、グリオーマにおいて MAGE-E1 の高発現はグリオーマの増殖に影響を及ぼしている可能性があり、その増殖機構を解明する一助となると考えられる。以上より、本論文の成果は今後の悪性グリオーマの基礎研究や臨床応用に貢献すると考えられ、学位に値すると考える。