The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	LRRC8 involved in B cell development belongs to a novel family of leucine-rich repeat proteins
Author(s)	岡田, 恵子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46182
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

【14】

氏　　名	岡　田　恵　子（おかだ　けいこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９７２３　号
学位授与年月日	平成 17 年 6 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学　位　論　文　名	LRRC8 involved in B cell development belongs to a novel family of leucine-rich repeat proteins **(B 細胞分化に関与する LRRC8 はロイシンリッチリピート蛋白の新規ファミリーに属する)**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　大薗　恵一 （副査） 教　授　金倉　　譲　　教　授　戸田　達史

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

以前われわれは、先天性無ガンマグロブリン血症、末梢血 B リンパ球欠損および顔面小奇型を有する女児の染色体均衡転座部位から、LRRC8（leucine-rich repeat-containing 8）という新規遺伝子を同定した。LRRC8 蛋白は、810 アミノ酸からなり、細胞外に leucine-rich repeat（LRR）を持つ膜貫通型蛋白であった。各種検証から B 細胞分化に関与する可能性が示唆された。

LRR を有する蛋白（LRR 蛋白）の中には、ホルモンレセプターや、細胞接着、さらには胎児期早期の発達や神経発達に関わっているものがあり、これらは LRR ドメインを介した protein-protein interaction によるとされている。したがって、LRRC8 も B 細胞分化に必須なリガンドを有する可能性がある。あるいは、LRRC8 に機能的・構造的に類似する蛋白は、免疫系で重要な働きを持つ分子の候補となりうる。そこで今回われわれは、バイオインフォマティクスと実験室的手法を用いて、LRRC8 と相同性を有する遺伝子を検索・同定し、蛋白構造の予想、ヒト臓器や活性化リンパ球での発現形式を解析したので報告する。

〔　方　　法　〕

①データベース検索およびコンピューター解析

LRRC8 と相同性の高い遺伝子の同定は、LRRC8 蛋白配列を用い、NCBI 蛋白データベースから、BLASTp にて検索した。各遺伝子のゲノム構造は、Human Genome Project Working Draft データベースから、BLAT にて検索した。マウスでも同様の検索を行った。各蛋白の有するドメイン、膜貫通部位、蛋白二次構造はそれぞれ Protein families database of alignment and HMMs、TMHMM Server v. 2.0、および PSIPRED protein structure prediction server にて予測した。

②半定量 RT-PCR 法による mRNA 発現解析

ヒト正常臓器における、各遺伝子の mRNA 発現形式は、Multiple Tissue cDNA Panel（Clontech 社）を用い、半定量 RT-PCR 法にて解析した。また、ヒト正常末梢血から単核球・単球を単離し、単核球は PHA もしくは PMA

で、単球はLPSで刺激したのちにmRNAを抽出し、半定量RT-PCR法にてmRNA発現量の経時的変化を解析した。

〔 成　　績 〕

①BL-ASTpおよびRT-PCRにより、LRRC8と相同性を有する遺伝子として、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420という４個の遺伝子が同定された。これらの遺伝子はすでにデータベース上名前を有したが、機能は未知であった。マウスでも同様に、mLRRC8、mTA-LRRP、mAD158、mLRRC5、mFLJ23420を同定した。ヒトのTA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420遺伝子は、それぞれ803、803、858、444アミノ酸からなる蛋白をコードしていると予想された。LRRC8を含めたこれら５個の予想蛋白は、C末の細胞外領域に16個のLRRを有し、（FLJ23420以外は）膜貫通部位を４個持っていた。構造は極めて類似しており、細胞外領域ではLRR部位に限らず高い相同性を有していた。しかし細胞内領域は相同性も低く、機能的ドメインも存在しなかった。マウスオルソログも同様の構造であった。また、TA-LRRP、AD158、LRRC5は、ヒト・マウスともに染色体上（それぞれ1p22.2、chr. 5）で遺伝子クラスターを形成していた。

②半定量RT-PCR法により、LRRC8、TA-LRRP、AD158、LRRC5は骨格筋以外のほぼ全ての臓器でmRNA発現を認めた。PHA刺激単核球では、LRRC8のmRNA発現量が次第に減少したのに対し、TA-LRRP、LRRC5、AD158は発現が誘導された。LPS刺激単球では、LRRC8の発現が抑制されたのに対し、LRRC5の発現が誘導された。

〔 総　　括 〕

LRRC8、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420は、その相同性の高さから、LRR蛋白のスーパーファミリーの中でも新規ファミリーに属していると考えられ、LRRC8ファミリーと名付けた。その予想蛋白構造から、細胞外のprotein-protein interactionに関与していると思われた。またTA-LRRP、AD158、LRRC5は、リンパ球や単球の増殖および活性化に関係していることが示唆された。これら３遺伝子は、染色体上でクラスターを形成していることからも、LRRC8とは異なる機能を有する可能性がある。

LRR蛋白の特徴から、LRRC8ファミリーは分化、増殖、細胞接着などに関わる新たな分子群である可能性があり、今後これらの機能やリガンドなどが明らかとなれば、免疫系における新たな知見が得られるかもしれない。

論文審査の結果の要旨

以前筆者らは、先天性無ガンマグロブリン血症の女児の解析からLRRC8という新規遺伝子を同定し、LRRC8蛋白は、B細胞分化に関与する分子である可能性を報告した。本報告では、LRRC8と相同性を有する遺伝子として、TA-LRRP、AD158、LRRC5、FLJ23420という４個の役割未知の遺伝子を同定した。LRRC8を含めたこれら５個の遺伝子がコードする蛋白の予想構造は、互いに非常に類似しており、ヒトとマウス間でもよく保存されていた。予想される５つの蛋白は、すべて細胞外領域に16個のロイシンリッチリピートを有しており、FLJ23420を除く４つの蛋白は、４つの膜貫通領域を有していた。これらの特徴から、ロイシンリッチリピート蛋白のスーパーファミリーの中でも新規ファミリーに属していると考えられ、LRRC8ファミリーと名付けられた。TA-LRRP、AD158、LRRC5はリンパ球や単球の増殖および活性化に関係していること、LRRC8とは異なる働きを有している可能性が示唆された。

LRRC8ファミリーが免疫系の未知の分子群であることを示し、さらなる機能解析により免疫系の新たな知見が得られる可能性を示した本論文は、学位に値するものと考える。