



OVER-EXPRESSION OF HOX-8, THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE MOUSE Hox-8 HOMEODOMAIN GENE, IN HUMAN TUMORS

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 誠 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1007

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 154号	学位授与年月日	平成 6年 3月25日
氏 名	鈴木 誠		
論文題目	OVER - EXPRESSION OF HOX - 8, THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE MOUSE Hox - 8 HOMEODOMAIN GENE, IN HUMAN TUMORS (マウスホメオボックス遺伝子 Hox - 8 のヒトホモログ HOX - 8 はヒト腫瘍において高発現する)		

医学博士 鈴木 誠

論文題目

OVER-EXPRESSION OF HOX-8, THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE MOUSE Hox-8 HOMEBOX GENE, IN HUMAN TUMORS

(マウスホメオボックス遺伝子 Hox-8 のヒトホモログ HOX-8 はヒト腫瘍において高発現する)

論文の内容の要旨

(目的)

ホメオボックスは、ショウジョウバエの形態形成遺伝子群に共通して存在する遺伝子配列として発見され、種を超えて保存されている遺伝子である。その遺伝子産物は塩基特異的に DNA に結合しほかの遺伝子の発現調節に関わっていると言われ、近年、癌での発現や、血液腫瘍における変化なども報告されている。

我々は、癌-胎児性に発現しているホメオボックス遺伝子のクローニングを目的にヒト卵巣 yolk sac tumor の cDNA library をスクリーニングし得られたクローンをプローブとして、種々のヒト腫瘍組織における発現を調べた。

(方法)

外科的に切除された卵巣 yolk sac tumor より cDNA library を作成した。ホメオボックス遺伝子の中で最もよく保存されている30塩基対の部分を作成しプローブとして、約 4.5×10^5 の cDNA クローンをスクリーニングした。得られた陽性クローンは、pUC にサブクローニングした後サンガー法により部分シーケンスをおこない DDBJ に登録されている既知の遺伝子と相同性の検索をした。次に、これらの cDNA クローンをプローブとしてヒトの種々の悪性腫瘍に対してノザンプロットを行い発現の程度を調べた。

(結果)

約 4.5×10^5 の cDNA クローンから3つの独立した陽性クローンが得られた。DNA 塩基配列のホモロジーサーチの結果、このうち2つは既知のホメオボックス遺伝子である HHO.c1 (Simeone, A et al, 1987) および HB24 (Deguchi, Y et al, 1991) であることが判明した。残る1クローンはマウスホメオボックス遺伝子である Hox-8 (Monaghan, A P, et al, 1991) と高い相同性をもつ未知の遺伝子の一部であり、このクローンはマウス Hox-8 の human counterpart (HOX 8) であると考えられた。

次に、それぞれのホメオボックス遺伝子のヒト腫瘍組織における発現をノザンプロットにより調べた。血球系腫瘍の細胞株では HOX 8 の発現はほとんど認められなかったが、HHO. c1 は赤血球系の細胞株に、また HB24 は骨髄球系の細胞株にそれぞれ高い発現が認められた。固形腫瘍における発現を見ると、HOX 8 は大腸癌に高い発現が認められたのに対し他の2つの遺伝子は一定の傾向を示さなかった。最後に、胚細胞系腫瘍での発現は、3つの遺伝子いずれもが卵巣 yolk sac tumor および精巣 seminoma において高い発現がみられた。

(考察)

マウスのホメオボックス遺伝子である Hox-8 は、胎児の発生過程において surface ectoderm や optic vesicle などで発現することが報告されている。また、ニワトリの limb bud にも Hox-8 に相当する遺伝子の発現が知られている。腫瘍におけるホメオボックス遺伝子の発現については、特に血液

系腫瘍で詳細に調べられており、赤血球系、骨髄球系などのそれぞれの系の腫瘍で特異的発現をするホメオボックス遺伝子がわかっている。しかし癌や肉腫などの固形腫瘍については、腎癌あるいは大腸癌などの上皮系腫瘍における発現の報告が数例あるのみである。

今回我々は、マウス Hox-8 の human counterpart である HOX 8 をヒト卵巣 yolk sac tumor の cDNA library より単離した。そしてこの遺伝子がこれまでに知られているホメオボックス遺伝子とは異なり、血液系腫瘍では発現せず大腸癌をはじめとする一部の上皮系腫瘍および胚細胞系腫瘍でのみ発現していることがわかった。これらの結果より HOX 8 のヒト上皮系腫瘍における関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

ホメオティック突然変異 (homeosis) は相同器官 (例、体節付属器官) に起こる形態的に顕著な突然変異で、中でもショウジョウバエのそれはよく研究されてきた。1980年代に入るとこれらの突然変異の原因遺伝子 (homeotic 遺伝子) が続々とクローン化され、塩基配列が解析されるようになった。ホメオボックス (homeobox) はこれらホメオティック遺伝子と他のいくつかの遺伝子に共通にみられる183塩基対 (61アミノ酸残基からなる「ホメオドメイン」に対応) の暗号配列である。ホメオボックスはこれまで調べられたうち、酵母からヒトに至るすべての真核生物にみられ、動物では初期発生で機能する遺伝子にみられる要素である。

脊椎動物のホメオボックス遺伝子のうちショウジョウバエのアンテナペディア遺伝子 (Antp) に関連するものは一般的に「ホックス遺伝子 (Hox gene)」または「クラス I ホメオボックス遺伝子」とよばれ、昆虫のもの同様にクロモソームの上で遺伝子クラスター (gene cluster) を形成している。哺乳類のホックス遺伝子は Hox-1 から Hox-4 の4クラスターとして存在している。それぞれのクラスターには10前後のホックス遺伝子が含まれる。これらの外にも、多くのホメオボックス遺伝子があり、本研究で問題とされた HOX-8 (MSX 2) はショウジョウバエの msh (muscle segment homeobox) 遺伝子に関連する脊椎動物のホメオボックス遺伝子である。

これまで見出されたホメオボックス遺伝子は主として発生・分化に関係あるものと考えられるが、未発見のホメオボックス遺伝子も多数あるとされ、それらの役割についても同様と断定することは今の所不可能である。しかし、ホメオドメインで最も保存度の高い配列がヘリクス・ターン・ヘリクス構造であるところから、ホメオドメイン含有タンパク質 (ホメオタンパク質 homeoprotein) が DNA 結合タンパク質 (おそらく転写因子) であることは確かである。

ヒトについてはホメオボックス遺伝子のいくつかが造血あるいは白血病に関係することが示された。上記 Hox-7、Hox-8 (とくに前者) は四肢の形成早期に該当部位に、また Hox-8 はマウス新生仔の顔面組織に発現していること、変異型 Hox-8 がヒト狭頭症 (craniosynostosis) の原因遺伝子らしいこと、また筋芽細胞に Hox-7 をトランスフェクトし発現させると分化の抑制が見られることなどが最近報告されているが、ヒトの固形腫瘍について Hox-8 が検索された報告はこれまでにない。

本研究では、ヒトの原始上皮細胞の増殖などを特徴とする卵巣 yolk sac tumor に発現している三つのホメオボックス遺伝子 (HB24、HHO. c1, Hox-8) を同定し、それらの発現を種々の組織について検索した。その結果、Hox-8 は上皮組織由来の腫瘍に高レベルに発現していることを見出した。

方法としては、yolk sac tumor mRNA から構築した cDNA ライブラリーを、ショウジョウバエ

のホメオボックス遺伝子の一つであるフシタラズ遺伝子 (ftz) のホメオボックスの中の最も保存度の高い30塩基対の配列に相当する合成オリゴヌクレオチドをプローブとして検索し、上記三つのクローンをえた。また、他の組織で発現しているそれらの検索するために、Hox-8 については特異的 DNA 断片を、他の二つについてはそれぞれの cDNA をプローブとしてノザンブロットを行った。

三つの遺伝子のうち HH0. c1 は赤白血病の細胞株以外に上皮組織由来の腫瘍でも発現が認められたが、後者での発現はケースごとに異なり、また該当する正常細胞にも発現の見られる場所があった。HB24は従来の報告に一致して骨髄性白血病細胞に発現がつよく、上皮由来の腫瘍では顕著でない。したがって、正常組織には発現がなく、上皮由来の腫瘍に発現が見られたのは三者のうち HOX-8 だけであった。

以上の発表にさいして、以下のような事項につき質疑がなされた。

- 1 なぜ卵巣 yolk sac tumor を cDNA ライブラリー構築の材料に選んだか
- 2 HB24のホメオボックス遺伝子の中の分類は
- 3 HOX-8 のアミノ酸配列
- 4 HOX-8 プローブによって検出される1.4kb と2.4kb バンドの意味
- 5 正常の卵黄嚢は調べたか
- 6 HOX-8 のエキソン数
- 7 HOX-8 の遺伝子座は
- 8 HOX-8 の細胞レベルでの発現部位
- 9 HOX-8 は腫瘍でタンパク質として発現しているか
- 10 HOX-8 の遺伝子産物はどのようなタンパク質か
- 11 癌組織と正常組織で HOX-8 の検出感度に差があるか
- 12 HOX-8 の発現と癌遺伝子の突然変異の関係
- 13 HOX-8 自体の突然変異は見つかっているか
- 14 HOX-8 の全長が回収されたか
- 15 28S のバンドの意味づけ
- 16 HOX-8 依存性に発現する遺伝子

以上の質問に対する申請者の解答も適切であり、これらから本論文は博士（医学）を授与するに値する内容をもつことを論文審査委員会委員全員が一致して判定した。

論文審査担当者 主査 教授 藤 田 道 也

副査 教授 市 山 新 副査 教授 吉 田 孝 人

副査 助教授 西 村 正 彦 副査 助教授 室 博 之