

氏 名（本籍）	かわ 川	ぎし 岸	じゅん 潤
学位の種類	博 士（医 学）		
学位記番号	医 博 第 1 3 7 8 号		
学位授与年月日	平 成 9 年 3 月 25 日		
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 外科学系専攻		
学位論文題目	$\alpha$ 型血小板由来増殖因子受容体の遺伝子構造と機能解析：神経膠腫形成における $\alpha$ 型血小板由来増殖因子受容体の関与		

(主 査)

論文審査委員 教授 吉 本 高 志 教授 柴 原 茂 樹

教授 糸 山 泰 人

# 論文内容要旨

## 研究目的

我々はヒト神経膠芽腫において構造改変した $\alpha$ -platelet-derived growth factor (PDGF) レセプターが高発現していることを報告してきた。神経膠腫形成過程における $\alpha$ PDGF レセプターの関与をより深く検討するために、これまで明らかにされていなかったヒト $\alpha$ PDGF レセプターの遺伝子構造と転写調節領域機能の解析を第一の目的とした。また、発生のメカニズムと神経膠腫の進展過程において $\alpha$ PDGF レセプターがどのような役割を果たしているかを明らかにし、脳腫瘍の発症と進行の防御を細胞および個体レベルで築くことを第2の目的にした。

## 研究方法

ヒト末梢血白血球細胞から構築したゲノムライブラリーをスクリーニングし、6個のファージクローンと1つのプラスミドクローンを単離して解析した。また、S1 マッピングおよびプライマー伸長法にて転写開始地点を決定したのち、 $\alpha$ PDGF レセプター遺伝子5'上流域のDNA断片をルシフェラーゼレポーター遺伝子上流に組み込み、転写活性部位を同定した。

神経膠芽腫より単離した変異型 $\alpha$ PDGF レセプター遺伝子をCOS細胞に導入し、*in vitro*での自己リン酸化能を解析した。さらに、NIH3T3細胞にも遺伝子導入して、フォーカスフォーメーションアッセイを行った。

変異型 $\alpha$ PDGF レセプター cDNA に、転写活性部位を有する5'上流域とグリア細胞に特異的に発現している glial fibrillary acidic protein (GFAP) のプロモーター領域をそれぞれ連結したミニ遺伝子を構築し、トランスジェニックマウスを作成した。

## 研究結果

1) ヒト $\alpha$ PDGF レセプターの全遺伝子構造を明らかにした。約65kbにわたって23個のエクソンが存在し、20数kbのイントロンが非翻訳領域で構成されるエクソン1と翻訳開始コドンを含むエクソン2を分離していた。また、この遺伝子は、MCSF-1 レセプターおよび *c-kit* 遺伝子と極めて類似したエクソン/イントロン構成を有することが示された。

2) ヒト $\alpha$ PDGF レセプター遺伝子の転写開始地点を同定した。ルシフェラーゼアッセイにより、この地点から5'側上流約220bp以内に転写に必要な最小限のプロモーター領域が決定され、その領域に AP-1, AP-2, Oct-1, Oct-2, Sp1 の結合配列が確認された。

3) 神経膠芽腫より単離された、変異型 $\alpha$ PDGF レセプターはPDGFの非存在下において、正

常型レセプターに比べ、数倍チロシンキナーゼ活性が亢進していることが明らかになり、NIH3T3細胞をトランスフォームさせることも示された。このことから、高次構造に変化を来した変異型レセプターは神経膠腫の悪性進展に深く関与していると考えられた。

4) 変異型 $\alpha$ PDGFレセプターを脳に発現させたトランスジェニックマウスを作製した。他の遺伝子異常を持つマウスとのかけあわせにより、自然発生脳腫瘍モデルが誕生する可能性があると考えられた。

### 研究の意義，独創的な点

PDGFはグリア細胞の強力な増殖因子で、神経膠腫を引き起こす*v-sis*のプロトタイプ遺伝子でもある。PDGFの過剰産生とそのレセプターの異常刺激によるグリア細胞の異常増殖が神経膠腫の一因と考えられてきた。我々が報告してきた部分欠失を伴う $\alpha$ PDGFレセプター遺伝子の増幅は、まさにこの考えを証明する優れた材料であり、これを用いた細胞および個体レベルでの脳腫瘍の発生と進展に関する研究から、新たな知見を得られることが期待できる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文において著者は、世界に先駆けて a 型血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) の遺伝子構造を明らかにし、さらに悪性神経膠腫の発生進展における PDGFR の関与を様々な角度から検討している。

実験結果は、正確な手技に基づいて導き出されており、特に、詳細に解析された遺伝子構造と転写活性部位の機能は、今後、多くの研究分野での基礎データとして広く活用されるものと考えられる。

また、高度に活性化された PDGFR を用いて自然発生脳腫瘍モデル動物を作製しようとする試みは斬新であり、神経膠腫形成との関与のみならず、脳の発生分化に関する重要な情報を得ることが期待される。

本論文のオリジナリティーおよび論文の完成度に鑑み、学位論文に十分値するものとする。