慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Position-specific expression of the Hox genes along the gastrointestinal tract.
Sub Title	ヒト腸管全長におけるHox遺伝子の部位特異的な発現
Author	矢作, 尚久(Yahagi, Naohisa)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.33-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0033

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Position-specific expression of the *Hox* genes along the gastrointestinal tract.

（ヒト腸管全長における*Hox*遺伝子の部位特異的な発現）

矢　作　　尚　久

内容の要旨

*HOX*遺伝子群は胎芽の前後軸方向の形態形成において重要な役割を担う。ヒトを含む哺乳類のゲノム中には39個の*HOX*遺伝子が存在する。39遺伝子は*HOXA*・*HOXB*・*HOXC*・*HOXD*に分けられ、それぞれ第７番・17番・12番・２番染色体上にクラスターをなして存在する。各クラスターには、９から11個の遺伝子が順にならび、他染色体上の遺伝子配列との相同性と各クラスター内の相対的な位置に応じて１番から13番まで付番され、パラログと呼ばれる。各パラログは、クラスター内の相対的な位置に応じて、胎児の椎体・四肢・管腔臓器（腸管・生殖器）の前後軸方向に分節状に発現し、番号の小さいパラログほど頭側に、番号の大きなパラログほど尾側に発現する。最近、*HOX*遺伝子が成人腸管にも発現すること、大腸癌において異常発現することが示されたが、正常成人腸管における*HOX*遺伝子群の発現パターンに関する系統的な研究は行われておらず、成人における*HOX*遺伝子の生理的意義は不明である。

本研究では、ヒト正常成人の食道・胃・十二指腸・空腸・回腸・回盲部・盲腸・上行結腸・横行結腸・下行結腸・直腸の11部位について全層組織に由来するcDNAを鋳型とし、定量的PCR法により全39*HOX*遺伝子の発現量を測定した。まず、熱変性高速液体クロマトグラフィー法を利用して既知量の鋳型DNAを得たのち、順次等倍に希釈した。希釈系列と各組織由来のcDNA、二重鎖DNAに介在する蛍光色素（SYBR Green）を混和したのち、PCR法により増幅し、蛍光強度を定量した。指数関数的増幅相における蛍光強度の対数値を直接近似し、y切片を外挿して増幅初期における鋳型DNA量を推定した。同じ方法によりハウスキーピング遺伝子*GAPDH*の発現量を測定した。*HOX*遺伝子発現量を*GAPDH*の発現量で除して正準化し、４クラスターx39遺伝子x11部位からなる行列データを得た。被説明変数を各*HOX*遺伝子の発現量、説明変数をクラスター、腸管前後軸上における相対的位置、パラログ番号として多変量解析を行った。

主成分分析を用いて、各*HOX*遺伝子発現を２次元平面に投射したところ、前腸由来腸管のベクトルの方向、大きさはほぼ一定であることが示された。中腸由来腸管・後腸由来腸管のベクトルもそれぞれ同じ方向・大きさを有していた。permax解析によれば、前腸由来組織において高発現する遺伝子は、後腸由来組織において低発現であり、後腸由来組織において高発現する遺伝子は、前腸由来組織において低発現である傾向を認めた。すなわち、成人腸管における*HOX*遺伝子群の発現パターンは、胎芽期腸管におけるそれに類似するものであることが判明した。胎芽期腸管における*HOX*遺伝子群の発現は原始腸管の部位特異的な分化過程に関与していると考えられていることから、成人腸管における*HOX*遺伝子群の発現が腸管上皮の部位特異的な再生過程に関与している可能性が示唆された。

論文審査の要旨

胎芽の前後軸方向への形態形成を規定する*HOX*遺伝子群は成人腸管でも発現しているが、生理的意義は明らかでない。本研究では、リアルタイムRT-PCR法を用いて全39*HOX*遺伝子の発現量を定量する測定系を確立し、成人腸管11部位の全層組織について定量を行った。探索的データ解析法（主成分分析・permax解析・trend surface解析）により*HOX*遺伝子群の発現が部位特異的であることを示し、*HOX*遺伝子が腸管上皮の部位特異的再生過程に関与している可能性を示唆した。

審査では、相同性の高い他の*HOX*遺伝子が非特異的に増幅され、定量結果に影響を与えた可能性について質問された。各増幅産物の塩基配列を直接シーケンシング法により決定し、特定の*HOX*遺伝子のみに由来することを確認したとの説明がなされた。また、二本鎖DNAに非特異的に結合するSYBR Greenを用いたことにより、偽増幅産物（プライマーダイマー等）を検出している可能性について質問された。リアルタイムPCRの最終反応終了後に、融解曲線を作成し、曲線に副次的変曲線を認めないことから偽増幅産物の生成は無視しうると判断したとの説明がなされた。

permax法を用いた発現パターンの比較は、前腸・中腸・後腸由来組織の３群間で行われたが、各群内の組織間での発現パターンの比較も必要ではないかとの指摘がなされた。主成分分析法により全11部位を同時に評価したところ、前腸・中腸・後腸由来の組織に群別した場合には各群での発現パターンは類似していたが、群内の各組織は異なる発現パターンを示したとの説明がなされた。成人腸管と胎芽期における発現パターンが、*HOXA*･*HOXD*遺伝子群については類似していたが、*HOXB*･*HOXC*遺伝子群については全く異なった点について説明を求められた。*HOXB*･*HOXC*遺伝子群が成人腸管の中腸由来組織において高発現であったことが主要因であると説明がなされた。さらに*HOXB*･*HOXC*遺伝子群はリンパ球において高発現であること、中腸由来組織ではリンパ系組織が豊富であること、の２点からリンパ球における*HOX*遺伝子発現を反映している可能性があるとの説明がなされた。

遺伝子発現の定量に頻用されているTaqman probe法による追試を行いSYBR Greenを用いた遺伝子発現定量法の妥当性を検証する事、消化管全層組織ではなく層構造内での*HOX*遺伝子の発現パターンを免疫組織化学的に検討する事が今後の課題として残されたが、*HOX*遺伝子群という極めて相同性の高い遺伝子群について全遺伝子の同時定量法を確立した点、多変量解析や空間統計学の手法を多角的に応用して、定量的に各遺伝子の発現パターンを特徴づけたこと、*HOX*遺伝子群が腸管上皮の再生過程に関与する可能性を示唆した点において意義のある研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　小児科学　高橋　孝雄
分子生物学　清水　信義　　産婦人科学　吉村　泰典
内科学　石井　裕正

学力確認担当者：
審査委員長：清水　信義

試問日：平成16年２月２日