

(17)

氏名(生年月日)	望 月 俊 雄
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1862号
学位授与の日付	平成10年4月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	<b>PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein</b> (膜関連蛋白をコードする多発性嚢胞腎の遺伝子, PKD2に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 二瓶 宏 (副査) 教授 相川 英三, 出村 博

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

常染色体優性遺伝性多発性嚢胞腎は、成人で発症しその約半数が末期腎不全に至る、遺伝性腎疾患の中で最も頻度の高い疾患である。その家系のうち約85%は第16染色体に連鎖し(PKD1)、その責任遺伝子はすでに同定されている。そこで、約15%を占め、第4染色体長腕(4q13-23)に局在するといわれる、第2の多発性嚢胞腎原因遺伝子(PKD2 遺伝子)のクローニングを試みた。

#### 〔方法〕

ポジショナル・クローニング法に基づき、約680 kbのPKD2領域においてコスミド、P1などのゲノムクローンを単離した。これらを用いて、cDNAライブラリーのスクリーニングを行い、得られたcDNAについて、①シーケンスによる相同性の解析、②ノーザンプロットによる発現解析、③SSCA (single-strand conformational analysis)法を用いた、PKD2患者における遺伝子異常の解析を行った。

#### 〔結果〕

得られた遺伝子のうち、あるcDNAの一部が膜関連蛋白であるPKD1遺伝子の膜貫通部とアミノ酸レベルで高い相同性を持っていた。PKD2に連鎖する3家

系の患者にこの遺伝子の変異を認めため、この遺伝子が責任遺伝子であると判断した。この遺伝子は5.4 kbのmRNAをもち、その発現は広く各臓器に及んでおり、特に成人の腎臓、膵臓、睪丸、卵巣、小腸、大腸で強く、また胎児の腎臓、肺でも強く認められた。遺伝子産物は、968個のアミノ酸よりなり、6個の膜貫通ドメインをもつ蛋白であった。その他、線虫(*C. elegans*)の遺伝子および、電位活性型のカルシウムチャンネル(VACC<sub>1E-1</sub>)の一部に相同性が認められた。

#### 〔考察〕

PKD2 遺伝子は、PKD1 遺伝子同様膜関連蛋白であった。PKD1 遺伝子の機能および嚢胞形成機序については不明であるが、両遺伝子の変異を原因とする患者の臨床症状に明確な差がないことや両遺伝子の相同性などから、嚢胞形成において、両遺伝子が同じ経路で関わり合っていることが示唆された。

#### 〔結論〕

多発性嚢胞腎の第2の原因遺伝子をポジショナルクローニングにより同定した。今後PKD1 遺伝子とともに、これらの遺伝子情報を基にした嚢胞形成機序の解明が期待される。

## 論文審査の要旨

常染色体優性遺伝性多発性嚢胞腎 (PKD) の一つ, PKD-1 はその 85% を占め, 責任遺伝子はすでに同定されている. 残りの 15% を占める, PKD-2 のクローニングを試みた. ポジショナル・クローニング法により, 約 680 kb の PKD-2 領域においてゲノムクローンを単離し, 遺伝子の解析を行った.

この遺伝子は 5.4 kb の mRNA をもち, その発現は成人の腎臓, 膵臓, 睪丸, 卵巣, 小腸, 大腸, 胎児の腎臓, 肺など, 広範な臓器で強く認められた. 遺伝子産物は 968 個のアミノ酸よりなる, 6 個の膜貫通ドメインを持つ蛋白で, 線虫の遺伝子, 電位活性型のカルシウムチャンネルの一部に相同性を認めた. PKD-1 と PKD-2 とでは程度の差はあっても臨床症状が類似することから, 両遺伝子が同じ経路で関わっていることが示唆された. PKD-2 遺伝子を同定しただけでなく, 遺伝子解析の新しい方法を確立した点で, 学術的に価値ある論文である.

### 主論文公表誌

PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein (膜関連蛋白をコードする多発性嚢胞腎の遺伝子, PKD2 に関する研究)

Science Vol 272 No 5266 1339-1342 頁 (1996 年 5 月 31 日発行) 望月俊雄, Wu G, Hayashi T, Xenophontos SL, Veldhuisen B, Saris JJ, Reynolds DM, Cai Y, Gabow PA, Pierides A, Kimberling WJ, Breuning MH, Deltas CC, Peters DJ, Somlo S

### 副論文公表誌

- 1) Molecular cloning, cDNA sequence analysis, and chromosomal localization of mouse Pkd2 (マウス Pkd2 遺伝子のクローニング, cDNA シークエンス解析, および染色体における局在). Genomics 45(1) : 220-223 (1997) Wu G, Mochizuki T, Le TC, Cai Y, Hayashi T, Reynolds DM, Somlo S
- 2) 多発性嚢胞腎. 腎と透析 43(3) : 314-318(1997) 望月俊雄, 岩田晶子, 土谷 健, 二瓶 宏
- 3) Characterization of the exon structure of the polycystic kidney disease 2 gene (PKD2) (PKD2

遺伝子のエクソン構造). Genomics 44(1) : 131-136 (1997) Hayashi T, Mochizuki T, Reynolds DM, Wu G, Cai Y, Somlo S

- 4) 多発性嚢胞腎. 腎と透析 42(3) : 375-379(1997) 望月俊雄, 高橋真生, 土谷 健, 二瓶 宏
- 5) Identification of mutations in the  $\alpha 3$ (IV) and  $\alpha 4$ (IV) collagen genes in autosomal recessive Alport syndrome (常染色体劣性遺伝アルポート症候群における, タイプ IV コラーゲン  $\alpha 3$  鎖および  $\alpha 4$  鎖遺伝子の変異の同定). Nat Genet 8(1) : 77-81 (1994) Mochizuki T, Lemmink HH, Mariyama M, Antignac C, Gubler MC, Pirson Y, Verellen-Dumoulin C, Chan B, Schroder CH, Smeets HJ, Reeders ST
- 6) Deletion of the paired  $\alpha 5$ (IV) and  $\alpha 6$ (IV) collagen genes in inherited smooth muscle tumors (遺伝性平滑筋腫における, タイプ IV コラーゲン  $\alpha 5$  鎖および  $\alpha 6$  鎖遺伝子の欠失). Science 261(5125) : 1167-1169 (1993) Zhou J, Mochizuki T, Smeets H, Antignac C, Laurila P, de Paepe A, Tryggvason K, Reeders ST