

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 村上 猛

ヒトゲノムの解読が本年6月に90%をこえたことが報告され、数万個と考えられるヒト遺伝子の基本的機能の解析が重要となっている。高齢化社会に向いつつある我が国においては血管病変にかかわる遺伝子機能は取り分け重要と考えられる。本論文において村上らは、DNAマイクロアレイ技術を用いて3万5千個のEST配列に相当するmRNAのレベルをヒト由来培養血管内皮細胞において代表的な炎症性サイトカインとして多彩な機能の知られる腫瘍壊死因子(TNF $\alpha$ )の刺激前後で多数例にわたって解析した。

まず既知遺伝子の解析では、他の9臓器または細胞との比較から内皮細胞に接着因子、細胞外基質関連、凝固因子関連の遺伝子の発現が多いことを証明し、内皮細胞において発現量の多いシグナル伝達物質サイトカインをプロファイリングした。続いてTNF $\alpha$ 投与後複数回の実験を行いその遺伝子発現において解析を行い、フォトマスクング法で作成されたオリゴヌクレオチドチップを用いた方法でTNF $\alpha$ で誘導される遺伝子については再現性ある結果(1回目上昇率上位17個のうち14個は2回目も上位17個にランクされる)が得られるが、抑制される遺伝子については再現性が悪い(2回の実験で低下率上位17個の内再現性あったのは4個)ことを確認した。そこで誘導される遺伝子についての解析を進めた。

TNF $\alpha$ で誘導された上位17個の未知遺伝子について解析を進め、このうち3つについては既知の遺伝子の部分配列であることを証明した。全く未知の遺伝子の内、ノーザンハイブリダイゼーションでもRNAの増加の確認された新規遺伝子h27628の完全長のクローニングを進めた。5'RACE法により1318bpのDNA配列にコードされた343アミノ酸の蛋白について構造解析を進め、これが5回膜貫通の新規蛋白質をコードしていることを発見した。この蛋白とホモロジーある蛋白はショウジョウバエのCG2716の膜貫通部分に発見され、種を越えた蛋白ファミリーの存在が推定された。

この遺伝子産物をヒト各組織において検討し、内皮細胞で誘導される他、心臓、筋肉、小腸、だ液線、胎児の肝臓、膵臓に多く発現していることが証明された。

ゲノム解析の進展にともない、従来知られていなかった遺伝子が生物学的反応において役割をはたしていることを確認することが重要となっている。本論文は、DNAマイクロアレイ技術を用いて35000個の遺伝子解析を進め、再現性、定量化のaverage difference, fold change, sort scoreなどを用いた評価法、配列情報のチェック法の応用を進めた。それらを用いて内皮細胞の代表的なサイトカインであるTNF $\alpha$ のターゲット遺伝子群をプロファイリングを行い、さらにTNF刺激に誘導される新規蛋白ファミリー遺伝子を同定し、ゲノムプロジェクト以降の新たな遺伝子解析のモデルともいえる解析を進めている。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。