

Title	The structure of the human thyrotropin β -subunit gene
Author(s)	Tatsumi, Keita
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/37130
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	たつみ 巽	けい 圭	た 太
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 1 0 6	号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	The structure of the human thyrotropin β -subunit gene (ヒト甲状腺刺激ホルモン β 鎖遺伝子の構造解析)		
論文審査委員	(主査) 教授	宮井 潔	
	(副査) 教授	松原 謙一	教授 吉川 寛

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

甲状腺刺激ホルモン (TSH) は, FSH, LH, CG を含む糖蛋白ホルモンの 1 つで, 全てに共通の α 鎖と各々のホルモンの特異性を規定する β 鎖よりなる。これまでに, 甲状腺刺激ホルモン β 鎖 (TSH β) cDNA はラット, マウス, ウシで, TSH β 遺伝子はラットとマウスで明らかにされている。ところで, ヒトでは下垂体組織が入手しにくいいため, ヒト TSH β 遺伝子の蛋白コード領域の塩基配列のみが報告されていた。本論文で, ヒト TSH β 遺伝子の全構造を決定し, 種々な解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

1) ヒト TSH β 遺伝子の構造決定

これまでに報告されていたヒト TSH β 遺伝子の開始コドン周辺の塩基配列は, ウシ cDNA とラット遺伝子と類似し, ヒト遺伝子にもラット遺伝子のエキソン 1 と類似した “エキソン 1” のあることが想定された。そこで, このエキソンのスクリーニングのため, ウシ cDNA とラット遺伝子の塩基配列をもとに, 21mer のプローブ U を合成した。

ヒトゲノム DNA を制限酵素 Sau 3A で部分切断して作成したヒトゲノム DNA ライブラリーより, 合成ヒト TSH β cDNA をプローブとしてスクリーニングしたところ, 3 つの λ フェージクローンが得られ, プローブ U と相補的な領域を dideoxy 法でシーケンスした。TSH β 遺伝子の塩基配列をヒトとラットやマウスとで比較して, ドットマトリックス分析を行ったところ, ラット, マウスのエキソン 1 から 5' 側にかけての領域がヒトと類似していたため, この類似した領域にヒトの “エキソ

ン1”があると考えた。ヒト正常下垂体より抽出したRNAと、この類似した領域を含むノーザンプローブ、あるいは合成ヒトcDNAプローブでノーザンブロット法を行うと、両プローブ共に約650ntの同じ長さのバンドを形成し、この類似した領域が蛋白コード領域と共にTSH β 遺伝子から転写されていることが確認された。

転写開始点を決めるためにヒト正常下垂体より抽出したRNAと、蛋白コード領域に相補的なプライマーとでプライマー伸長法を行ったところ、92ntの主バンドと89ntの副バンドが得られた。別のプライマーを使って同様の実験を行うと37ntの主バンドと34ntの副バンドが得られた。この結果とスプライシングのコンセンサス配列とを考慮に入れるとエクソン1の両端と蛋白コードエクソンの5'端が決まり、既に報告されていた蛋白コードエクソンがエクソン2と3であることが分かった。

次に、polyA付加点を定めるために、ヒト正常下垂体より抽出したRNAとヒト遺伝子の3'側より得たS1プローブとでS1マッピングを行ったところ、107~117ntと119~124ntのバンドが得られた。従って2ブロックのpolyA付加点があることが分かり、その前には2組のpolyAシグナルが認められた。

2) ヒトと他の動物のTSH β 遺伝子の比較

以上の結果、ヒトTSH β 遺伝子の全長は4.5 kbに及び、3つのエクソンよりなっている。また、ヒトとラット、マウスとでエクソン1及びその5'隣接領域の塩基配列は、蛋白コード領域と同じ位の80%以上の高いホモロジーが認められた。

エクソン1及びその周辺の類似した領域を並べてみると2組の“TATA”，“CAAT”のプロモーター配列が3種の間でよく保存されており、ラット、マウスでは両方のプロモーター由来の転写開始点が認められている。ヒトTSH β 遺伝子の正常下垂体における転写開始点は、ラット、マウスの下流の転写開始点より10bp上流にあるが、それらでは“TATA”との間で、ヒトにたいして9bpの欠失があることを考慮すると、共に下流の“TATA”由来の転写開始点であると考えられる。

3) TSH産生腫瘍におけるmRNAの解析

ヒトのTSH産生腫瘍においてどの転写開始点が使われるかを検討した。先に述べたのと同じようにプライマー伸長法を行ったところ、正常下垂体のときと全く同じバンドが得られた。従ってヒトではTSH産生腫瘍においても正常下垂体と同じ下流のプロモーター由来の転写開始点しか用いられていないことが示された。

また、同様にSIマッピング法でpolyA付加点を検討したところ、正常下垂体の時と全く同じバンドが得られた。従ってヒトではTSH産生腫瘍でも2組のpolyAシグナルが正常下垂体と同様に働いていると考えられる。

4) 転写制御配列

cAMP制御配列は、いくつかのヒトやラットの遺伝子で、それらの5'隣接領域で報告されている。これらのcAMP制御配列にはよく保存されたコア配列が認められているが、ヒトTSH β 遺伝子では類似の配列が-565~-556と-188~-179にある。この領域をヒト、ラット、マウスで比較したところ、その周囲30nt以上がよく保存されており、ラットで報告されているようなcAMPによる発現制

御に使われると思われる。

〔総括〕

ヒトTSH β 遺伝子をクローニングし、その全構造を決定し、5'隣接領域に転写制御配列のあることを示唆した。5'転写調節領域が明らかになったことにより、今後、ヒトTSH β 遺伝子のホルモンとしての転写制御、下垂体組織特異的な発現制御、および、TSH欠損患者での転写異常等が明らかにされていくと思われる。

論文の審査結果の要旨

甲状腺刺激ホルモン(TSH)は、 α 、 β 両鎖から成り、甲状腺機能を直接的に制御する下垂体ホルモンであるが、本論文は、ヒト甲状腺刺激ホルモン β 鎖(TSH β)遺伝子をクローニングし、はじめにその全構造を明らかにしたものである。これを他の動物と比較して、ヒトTSH β 遺伝子の5'隣接領域の塩基配列がタンパクコード領域と同じ程度の相同性があること、また、そのなかに転写制御配列のあることを示した。また、ヒトのTSH産生腫瘍においても正常下垂体と同じプロモーター、polyAシグナルを使ってTSH β mRNAを転写していることを明らかにした。

これらの研究成果は、内分泌分子生物学上非常に意義深いものであり、本論文は学位論文として十分価値あるものと認められる。