The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of Homeobox Genes Expressed During the Process of Rat Liver Regeneration After Partial Hepatectomy
Author(s)	水田, 依久子
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40360
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 23 】

氏　　名	水田　依久子（みずた　いくこ）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学位記番号	第　12656　号
学位授与年月日	平成8年7月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Identification of Homeobox Genes Expressed During the Process of Rat Liver Regeneration After Partial Hepatectomy （ラット部分肝切除術後の肝再生過程において発現しているホメオボックス遺伝子の同定）
論文審査委員	（主査） 教授　長田　重一 （副査） 教授　中村　敏一　　教授　近藤　寿人

論文内容の要旨

［目　的］ ホメオボックス遺伝子は発生や分化の過程に関与していることが知られている。我々はホメオボックス遺伝子が，肝臓の再生過程にも何らかの役割を果たしているのではないかと考えた。その可能性を確かめるために，肝再生過程のある時期に特有な発現をするホメオボックス遺伝子を探し出すことが本研究の目的である。

［方法ならびに成績］ 3分の2部分肝切除術後0時間，1時間，2日，4日後の正常成熟ラットから肝臓を摘出しmRNAを抽出した。比較のため，胎生14日ラット肝からもmRNAを抽出した。既に我々は10個のラットホメオボックス遺伝子をクローニングしていた。それらのホメオボックス内の特によく保存された2つの領域の塩基配列から，混合プライマー（以下，プライマーR，Fと呼ぶ）を作成した。プライマーR，Fを用いたRT-PCR法により，以下の2つの実験を行なった。

(1) 各肝mRNA中に含まれるホメオボックス遺伝子転写産物の総量の定量：competitive RT-PCR法により定量した。値はβ-actinの発現量で補正した。肝切除術後0時間，1時間，2日，4日後および胎生14日の肝mRNA中のホメオボックス遺伝子転写産物の総量は，各々1，0.3，1.7，1.1および83.3 pg/100 ng mRNAであった。

(2) 各肝mRNA中に含まれるホメオボックス遺伝子の同定：各肝mRNAからプライマーR，Fを用いたRT-PCR法により増幅したホメオボックス遺伝子転写産物を，プラスミドpUC18に入れてcDNAライブラリーを作成した。クローニング及びシークエンシングにより各cDNAライブラリー中に含まれるホメオボックス配列を決定し，既知のホメオボックス配列と比較してその種類を同定した。各cDNAライブラリーから単離されたホメオボックス遺伝子及びそのクローン数（括弧内）は次の通りである。

肝切後0時間(正常肝)；RHoxA1(8)，A4(4)，A5(4)，B2(5)，B3(3)，B5(4)，RCdx-3(1)。

肝切後1時間；RHoxA1(5)，A4(3)，A5(6)，B2(2)，D3(1)，RCdx-3(7)，RCdx-4(1)。

肝切後2日；RHoxA1(6)，A5(7)，B2(4)，B3(3)，B5(1)，D3(1)，RCdx-3(1)，RC-16(1)。

肝切後4日；RHoxA1(10)，A4(5)，A5(3)，B2(3)，B3(2)，B7(1)，C6(2)，RCdx-1(2)。

胎生14日；RHoxA1(2)，A5(5)，A7(1)，A9(4)，A11(2)，B2(3)，B3(1)，B5(2)，B8(1)，C6(2)，C8(4)，C9(4)，

D3(1)，RCdx-1(2)，RCdx-3(1)。

(注) RHoxA (or B, C, D) は rat HoxA (or B, C, D) cluster のこと。各遺伝子は文中では A4，B2等と略記している。RCdx は rat caudal-related gene のこと。RC-16は未報告のホメオボックス遺伝子であった。

各ステージから多数のホメオボックス遺伝子の発現が同定されたが，あるステージで3つ以上のクローン数が得られた遺伝子をそのステージにおいて有意に発現している遺伝子と考えて肝再生過程のホメオボックス遺伝子の発現パターンを以下のように解析した。

(1) 胎生14日肝に比べ，正常肝及び再生肝で発現しているホメオボックス遺伝子は RHoxA 及び RHoxB クラスターに偏っていた。その殆どが (RHoxA1，A4，A5，B2，B3)，正常肝でのみならず肝再生中も持続して (或いは，ほぼ持続して) 発現していた。

(2) RHoxB5は正常肝で有意に発現していたが，肝再生中には有意な発現が見られなかった。

(3) RCdx-3は肝切後1時間にのみ有意な発現が見られた。

[総　括] ラット部分肝切除術後の肝再生の実験系と RT-PCR 法，クローニング，シークエンシングを用いて肝再生過程のホメオボックス遺伝子の発現パターンを調べた。ホメオボックス遺伝子の発現総量は，胎生肝に比べ低かったが，肝再生過程のある時期に特徴的な発現をすると考えられるホメオボックス遺伝子が2つ同定された (RHoxB5と RCdx-3)。また，正常肝で及び肝再生中も持続して発現していると考えられるホメオボックス遺伝子も5つ同定された (RHoxA1，A4，A5，B2，B3)。

論文審査の結果の要旨

本論文は，ホメオボックス遺伝子と肝臓再生過程の関連性を仮定し，種々の遺伝子工学的手法を用いて，その可能性を示したものである。その問題提起は，細胞の増殖，分化の研究分野において，興味深いものであり，論文中のデータ解析は綿密であり，結果として仮定どおり肝臓再生過程に関与する可能性のあるホメオボックス遺伝子を複数個同定することができている。よって，本論文は博士の学位論文に値する。