



Title	Amino-terminal Processing of Cell Surface Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor Up-regulates Its Juxtacrine but Not Its Paracrine Growth Factor Activity
Author(s)	中川, 孝俊
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40738">https://hdl.handle.net/11094/40738</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名	中川孝俊
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 13685 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Amino-terminal Processing of Cell Surface Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor Up-regulates Its Juxtacrine but Not Its Paracrine Growth Factor Activity. (細胞表面上のヘパリン結合性EGF様増殖因子のアミノ末端のプロセシングは、ジャクスタクリン活性を上昇させるが、パラクライン活性には、影響を与えない)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 谷口直之
	(副査) 教授 高井義美 教授 中村敏一

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

1991年に、ヒトマクロファージ培養上清中より見い出されたヘパリン結合性EGF様増殖因子(HB-EGF)は、EGFファミリーに属し、EGFレセプターに結合する増殖因子である。EGFファミリーに属する増殖因子は、すべて膜アンカー型で合成される。HB-EGFも膜アンカー型(proHB-EGF)で合成されるが、この形態においても、遊離型(sHB-EGF)と同様に増殖因子としての活性を有している。proHB-EGFの増殖因子活性(ジャクスタクリン活性)は、CD9と呼ばれる膜上の糖蛋白質によって上昇することが知られている。また、proHB-EGFからsHB-EGFへの変換は、ホルボールエスチルや、カルシウムイオノフォアなどによって促進され、この過程もジャクスタクリンとパラクライン活性を厳密に制御している。このようにproHB-EGFとsHB-EGFは、独自の機能を有していると考えられる。今回私は、Chinese Hamster Ovary (CHO)細胞において、十分なN末端のプロセシングを受け、約19kDaの主要バンドを示すヒトHB-EGFと、さほど、プロセシングを受けず約27kDaの分子種が主要となるマウスのHB-EGFのキメラ分子を用いてアミノ末端プロセシングのジャクスタクリン活性に及ぼす影響を調べた。さらに、異なるN末端を持つヒトHB-EGFのパラクライン活性も比較検討した。

#### 【方法】

1. 膜表面のHB-EGFを検出するために細胞表面のビオチン化、および免疫沈降法を用いた。発現量は、こうして得られたバンドをデンシトメトリーにて測定した。
2. ジャクスタクリン活性の測定には、EGFレセプターを発現し、そのリガンド依存的に増殖するEP170.7細胞とホルマリン固定したHB-EGF発現細胞とのco-culture系を用いた。
3. リコンビナントsHB-EGFを得るためバキュロウイルスの発現系を利用した。
4. パラクライン活性は、上述のEP170.7細胞に対するDNA合成促進活性を測定した。

#### 【成績】

発現レベルの等しいヒトおよびマウスproHB-EGFを発現するCHO細胞のジャクスタクリン活性はヒトproHB-EGFのほうが約10倍高かった。また、ヒトproHB-EGFは19kDa-22kDaのところに主要なバンド、一方、マウスの

ものは、27kDa のところに主要なバンドがみられた。ヒトのN末端をマウス HB-EGF のN末端に置き換えると、従来のマウス proHB-EGF に比べてプロセシングが変化し、約19-22kDa のバンドが主要バンドになった。さらに、ジャクスタクリン活性は、約8倍増加した。それに対して、マウスN末端をヒト HB-EGF のものと置き換えると主要バンドは、19kDa から27kDa へとシフトしプロセシングが進まなくなった。併せて、そのキメラ proHB-EGF の持つジャクスタクリン活性は、約5分の1に低下した。75個のアミノ酸よりなるリコンビナント HB-EGF とN末端の長い117個のアミノ酸よりなるリコンビナント HB-EGF の活性を比較したところ差は見られなかった。

### 【総括】

本研究によってヒト proHB-EGF のN末端のプロセシングは、そのジャクスタクリン活性を十分に発揮するために必要であり、パラクリン活性には、N末端のプロセシングは、影響を与えないことが示された。こういった報告は、これまでされておらず他の膜アンカー型増殖因子においてもN末端のプロセシングが重要である可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子（HB-EGF）は、膜結合型としては、ジャクスタクリンで、分泌型としては、パラクリンで働く多くの機能を有する増殖因子である。近年、EGF ファミリーに属する増殖因子を始めとして TNF- $\alpha$  や c-kit ligand 等、様々な因子のジャクスタクリン活性が注目されてきている。申請者は、HB-EGF のジャクスタクリン活性の制御機構に注目した。まず、マウスおよびヒトのジャクスタクリン活性が大きく異なり、なおかつそのアミノ末端のプロセシング効率が大きく異なることを見いだした。すなわちマウス HB-EGF は、ヒトのものに比べて活性も低く、そのアミノ末端のプロセシングもあまり受けないと言うことである。この事実より申請者は、マウスおよびヒト HB-EGF のアミノ末端領域を相互置換する事によりアミノ末端のプロセシングとジャクスタクリン活性の関係を定量的に比較検討した。その結果、マウスの HB-EGF のアミノ末端をヒトのものに入れ替える事によりそのプロセシングは、亢進し、なおかつジャクスタクリン活性も約8倍増加した。一方、ヒトのアミノ末端をマウスのものと置換するとプロセシングは、低下し、かつジャクスタクリン活性は、約5分の1に低下した。これらのこととは、アミノ末端のプロセシングが、ジャクスタクリン活性を十分に発揮する上で必須であることを示した。申請者は、さらにパラクリン活性には、アミノ末端のプロセシングは、影響を与えないことも示しており、これらの事実は、増殖因子の作用機構を明らかにしていく上で、非常に重要な知見であると考えられる。従って、本論文は、博士の学位の授与に値するものと考えられる。