



Title	Hepatoma-Derived Growth Factor Belongs to a Gene Family in Mice Showing Significant Homology in the Amino Terminus
Author(s)	伊豆本, 義隆
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40881
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

氏 名	伊 豆 本 義 隆
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 9 9 6 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 2 項該当
学 位 論 文 名	Hepatoma-Derived Growth Factor Belongs to a Gene Family in Mice Showing Significant Homology in the Amino Terminus (肝癌細胞由来増殖因子 (HDGF) は N 末端に ホモロジー領域を持つ 遺伝子ファミリーを形成する。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸本 忠三
	(副査) 教 授 中村 敏一 教 授 平野 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

肝癌細胞由来増殖因子 (HDGF) はヒト肝癌由来培養細胞 HuH-7 の培養上清より単離された Swiss3T3細胞に対する増殖活性を持つ240アミノ酸の酸性たんぱく質である。そのヒト cDNA より推定されるアミノ酸配列は分泌のためのシグナル配列を持たず、また核たんぱく HMG1 に対し約30%のホモロジーを示す。よって HDGF の核内での働きも示唆されている。その mRNA はヒト癌由来の培養細胞のみならずヒト正常組織でも単一の band として発現していることが示されている。ヒト HDGF の cDNA をプローブとしてマウス臓器での mRNA の発現をみたところ睾丸組織で強く幅の広い band を検出した。このことは複数の HDGF に関連した cDNA の存在を示唆している。HDGF の生理作用をより明らかにするためには、これらの cDNA を取得し解析することが重要と考えられる。そこでマウス睾丸組織より作成した cDNA ライブラリーを用いて HDGF に関連する cDNA のスクリーニングを試みた。

【方法ならびに成績】

1) マウス HDGF および HDGF 関連遺伝子のクローニング

ヒト HDGF の cDNA をプローブとしてマウス睾丸組織より作成した cDNA ライブラリーをスクリーニングしたところ20個の陽性クローランを得た。これらのクローランは塩基配列を決定することにより 3 種類の cDNA に分類された。ひとつはヒト HDGF のマウスホモログ (マウス HDGF) をコードしていた。マウス HDGF は238アミノ酸より成りヒト HDGF に対し88%のホモロジーを示した。とくに N 末端の108アミノ酸は100%一致している。他のふたつは HDGF に関連した283アミノ酸と669アミノ酸のたんぱくをコードしており、それぞれ HDGF-related protein1 と 2 (HRP-1 と -2) と命名した。HRP-1 と HRP-2 のアミノ酸配列は GenBank 等のデータベースに対して該当するものは無く新規たんぱくであった。

2) HDGF 関連たんぱくのアミノ酸配列の特徴

HRP-1 と HRP-2 は特徴的なアミノ酸の組成を持っている。HRP-1 は酸性アミノ酸およびプロリンの割合が高い。HRP-2 は酸性と塩基性のアミノ酸およびプロリンとセリンの割合が高い。統計学的な研究によると、核たんぱくは細胞質たんぱくに比べて電荷を持つアミノ酸 (酸性または塩基性アミノ酸) の割合が高く、さらにプロリンとセリンの

割合も高いことが報告されている。さらに HRP-2は charge cluster と呼ばれる極端に酸性と塩基性のアミノ酸の割合の高いアミノ酸の部分配列を持っている。すなわち321番から363番の43アミノ酸のうち20個が酸性アミノ酸であり16個が塩基性アミノ酸であった。やはり統計学的な研究によるところ charge cluster は核内で転写や複製に関与する調節因子に多くみられることが報告されている。以上より HRP-1と HRP-2が核たんぱくとして作用する可能性が示唆される。

HDGF, HRP-1, そして HRP-2のアミノ酸配列を比較するとN末端によく保存された98アミノ酸の領域が存在することが明らかになった。この領域で HRP-1と HRP-2は HDGF に対してそれぞれ72%および68%のホモロジーを示した。以後この領域を hath 領域 (homologous to the amino terminus of the HDGF) と呼ぶ。hath 領域の高い保存性はこの領域が何らかの共通の生物学的機能を有していることを示唆する。しかし既知の機能性のアミノ酸配列(モチーフ)を持たないため、この領域の機能は今のところ不明である。

3) HDGF関連たんぱくの発現分布

マウス HDGF, HRP-1, そして HRP-2のマウス臓器での発現を調べるために hath 領域以外の部分をもとに DNA プローブを作成しノーザンプロットハイブリダイゼーションを行った。その結果マウス HDGF と HRP-2の mRNA は普遍的に発現しました良くなじみの発現パターンを示した。すなわち睾丸と筋肉で強く発現し、心臓、脳、肺、肝臓、そして腎臓では中間レベルの発現を示し、そして脾臓では非常にわずかの発見が検出された。マウス HDGF では約2.5 kb の単一の mRNA band が、そして HRP-2では約2.5kb の major band と約3.5kb の minor band の 2 本の mRNA band が検出された。一方 HRP-1の mRNA(約2.2kb の単一の band)は睾丸にのみ特異的に強く発現していた。マウス HDGF, HRP-1, そして HRP-2の mRNA は睾丸で強い発現がみられることから、これらのたんぱく、特に HRP-1、は雄生殖細胞の分化・増殖に重要な役割をはたしている可能性が示唆される。

【総括】

HDGF は N 末端によく保存された98アミノ酸よりなる hath 領域をもつ遺伝子ファミリー (HDGF, HRP-1, そして HRP-2) を形成していることが判明した。新たに発現された HRP-1と HRP-2はそのアミノ酸配列の特徴より核たんぱくである可能性が示唆される。HDGFおよび HRP-2はマウス臓器において普遍的に発現がみられたが、HRP-1は睾丸に特異的に発現していた。HRP-1は雄生殖細胞の形成に関与している可能性が示唆される。

論文審査の結果の要旨

本論文は肝癌細胞由来増殖因子 (HDGF) が遺伝子ファミリーを形成することに関するものである。

HDGFはマウスにおいてそのN末端に hath 領域を共有するファミリーを形成することが示され、その内のふたつである HRP-1と-2の cDNA がクローニングされた。この hath 領域は約70%と比較的高いホモロジーを有し、また HDGF ではヒトとマウスで100%保存されていることが示されたことから、何らかの共通の重要な生物学的機能を有すると考察される。HRP-1と-2はどちらも、統計学的な報告に基づき、核たんぱくとして作用する可能性が示唆された。さらに HRP-2は統計学的に charge cluster と呼ばれる極端に電荷の大きいアミノ酸の部分配列を持つことが認められた。これは基本転写因子に多く見られることが報告されており興味深い。HDGFと HRP-2の mRNA は、睾丸で強く脾臓でやや弱いものの、普遍的に発現していることが示され、いっぽう HRP-1の mRNA は睾丸に特異的に強く発現していることが示された。よってこれらのたんぱく、特に HRP-1、は雄生殖細胞の分化・増殖に重要な役割をはたしている可能性があると考察される。

本論文では HDGF が属し hath 領域を共有する新規な遺伝子ファミリーの存在が明らかにされた、よって学位に値するものと認める。