

| | |
|--------------|---|
| 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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|------------|---|
| 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 13996 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個の陽性クローンを得た。これらのクロー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なたんぱくであった。

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の 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ブ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 は普遍的に発現した良く似た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 2.5 kb の major band と約 3.5 kb の minor band の 2 本の mRNA band が検出された。一方 HRP-1 の mRNA (約 2.2 kb 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えられる。

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。