The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of new genes Ndr2 and Ndr3 which are related to Ndr1/RTP/Drg1 but show distinct tissue specificity and response to N-myc.
Author(s)	奥田, 智彦
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41741
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

【39】

氏　　名	奥　田　智　彦（おく だ とも ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15244　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学　位　論　文　名	Identification of new genes *Ndr2* and *Ndr3* which are related to *Ndr1*／*RTP*／*Drg1* but show distinct tissue specificity and response to N-myc. （*Ndr1*／*RTP*／*Drg1* 関連遺伝子 *Ndr2* および *Ndr3* の同定とその発現特異性の解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　近藤　寿人 （副査） 教　授　田中亀代次　　教　授　濱田　博司

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

N－mycは、Mycファミリーに属する転写制御因子で、細胞分化や器官形成に深くかかわるものと考えられている。そこで胚の形態形成におけるN－mycの機能を解析するために、その転写制御標的遺伝子を同定する試みがなされてきた。これまでに、野生型マウス胚と*N－myc*欠損マウス胚との間のcDNAサブトラクションにより、N－mycによりその発現が抑制されていると考えられる遺伝子が同定され、その有力候補のひとつが*Ndr1*（N－myc downstream, repressed－1）である。*Ndr1*は、分子量約43kDaの新規のタンパク質をコードしており、既知のタンパク質とのホモロジーは見られない。これまでに、*Ndr1*遺伝子はそのプロモーター領域を通じてN－mycおよびMaxによってその発現が抑制されることが明らかになっているが、Ndr1自身がいかなる機能をもつかは不明であった。

本研究においては、Ndr1の機能を解析する目的で、Ndr1関連遺伝子を検索し、胚発生過程におけるその発現パターンを解析した。

【方法ならびに成績】

我々は、*Ndr1*と類似性の高い塩基配列をもつ遺伝子をマウスESTデータベースに見出し（*Ndr2*）、その配列をプローブにcDNAライブラリーをスクリーニングしたところ、*Ndr2*のみならず、新規cDNAクローン*Ndr3*も同定した。これらのクローンから予想されるアミノ酸配列はNdr1と高い相同性を示し、それぞれ54%、64%であった。このことからNdr1およびこれらのNdr関連遺伝子は遺伝子ファミリーを構成しているものと考えられた。

次にマウス胚のtotal RNAによるNorthern blotにより、これらの遺伝子の胚発生過程における発現パターンを解析した。妊娠11.5日日胚において、*Ndr1*は*N－myc*ホモ欠損胚で発現が大きく亢進されているが、*Ndr2*および*Ndr3*遺伝子の発現の亢進はみられない。正常胚発生過程においては、*Ndr1*は妊娠15.5日ごろから発現量が急に上昇するが、*Ndr2*は11.5日頃から発現量がしだいに増してくる。*Ndr3*は妊娠9.5日からある程度の発現量がみられ、発生が進んでも大きな変動はみられない。

そこで*Ndr*ファミリー遺伝子の発現パターンをそれぞれマウス9.5～12.5日胚においてwhole-mount *in situ* hybridization法により比較した。*Ndr1*は9.5日胚においては体節に弱いシグナルを認め、11.5日胚においては肝臓、消化管原器にシグナルを認めた。*Ndr2*は9.5日胚においては心房に、10.5日胚においては心室にシグナルを認めた。

Ndr3 は9.5日胚から全身にわたって発現を認めるが、特に尾芽や体節での発現が強く、10.5日胚においては心室・心房でのみ発現が弱い。また、12.5日胚の指芽においては、*Ndr1* の発現は見られないが、*Ndr2* は軟骨膜に、*Ndr3* は指間間充織に発現がみられた。

さらにマウス14.5日胚の横断切片を作成し、組織・器官ごとの *Ndr* ファミリー遺伝子の発現パターンをそれぞれ *In situ* hybridization 法により比較した。*Ndr1* は、終脳の cortical plate および消化管の粘膜上皮、一部の腎尿細管、また肝臓において強く発現されていた。*Ndr2* は、脳および脊髄の ventricular zone、心筋などで強い発現がみられ、また、神経節、腎臓や後腸にも弱いシグナルを認めた。また *Ndr3* は、胚全体にわたって一様に発現されているが、脊髄灰白質と胸腺において強いシグナルがみられた。

【総括】

近年、*Ndr1* は、がん化した組織やがん細胞株においてはその発現量が低く、また分化誘導薬剤処理などによって発現量が増加することが報告されており、細胞分化との関連が示唆されている。本研究により *Ndr1* は、*Ndr2* および *Ndr3* などとともに遺伝子ファミリーを形成していることが明らかになり、その相同遺伝子が植物や線虫においてもみられることとあわせて、その機能の重要性が示唆された。また、それぞれの *Ndr* ファミリー遺伝子は、胚発生の過程において組織ごとにそれぞれ異なる発現パターンを示すことも明らかになった。このことは、*Ndr* ファミリー遺伝子が組織ごとに特化した機能をもつことを示唆する。

論文審査の結果の要旨

本研究はN－mycによって抑制を受ける遺伝子として単離された *Ndr1* 遺伝子の発現制御機構と遺伝子ファミリーの構成に関するものである。

申請者はまず、N－mycによって抑制される *Ndr1* 遺伝子プロモーター領域と、遺伝子上流約15kbに位置するエンハンサーを同定した。また，*Ndr1* と類縁の *Ndr2*、*Ndr3* 遺伝子を見いだし、これらが一つの遺伝子ファミリーを構成するとともに、それぞれ異なった組織特異性をもって発現されることを明らかにした。

最近、*Ndr1* とそのヒトホモログ *Drg1* の発現抑制が、組織のがん化と強い相関をもっていることが注目されており、本研究は、この現象の基礎をなす分子機構とその細胞生物学的意義の解明に大きな手がかりを与えたものである。従って本研究は博士（医学）の学位に値するものと評価する。