

Title	A new member of a hepatoma-derived growth factor gene family can translocate to the nucleus
Author(s)	池亀, 和博
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41750
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	いげ がめ かず ひる 池 亀 和 博
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 5 2 7 4 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 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	A new member of a hepatoma-derived growth factor gene family can translocate to the nucleus. (新規HDGFファミリー分子は核に移行する)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次 (副査) 教授 中村 敏一 教授 宮崎 和幸

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

hepatoma-derived growth factor (以下 HDGF) は線維芽細胞を増殖させる因子として、肝細胞癌培養上清より精製された。その後 HDGF と N 末端の約 100 アミノ酸に相同性を有し、C 末端側に核移行シグナル配列 (NLS) を有する分子、HDGF-related protein (HRP) - 1、HRP - 2 が発見され、これらが 1 つのファミリー (HDGF ファミリー) を形成していることが明らかとなった。今回、新規な HDGF ファミリー蛋白 (HRP - 3) をクローニングし、その特性について検討をした。

【方法ならびに成績】

HDGF ファミリーは N 末端の約 100 アミノ酸に相同性 (hath region) を有しており、今回ヒト HDGF の hath region を、tBLASTN アルゴリズムにて、データベース検索を行った。これにより、複数の新規 HDGF ファミリー分子の存在することが明らかとなり、このうちの 1 つを HRP - 3 と命名し、ヒト及びマウスでの遺伝子配列を決定した。ヒト HRP - 3 は 203 個のアミノ酸、マウス HRP - 3 は 202 個のアミノ酸よりなり、アミノ酸配列は、ヒト、マウス間で相同性は 98% であり、高く保存されていた。N 末端は他の HDGF ファミリー分子同様、約 100 アミノ酸が保存されており (hath region)、かつ C 末端に核移行シグナル配列 (NLS) を有していた。そこで、HRP - 3 の細胞内局在を調べるため、HRP - 3 と green fluorescein protein (GFP) とのキメラ分子を、培養細胞内に発現させ、顕微鏡下に蛍光を観察したところ、核に局在していた。

次に Northern blot により、HRP - 3 の発現を臓器別に調べた。ヒト及びマウスにおいて精巣、脳、次に心臓に強い発現が認められた。更に脳内の核部位別にも検討を行ったが、特に明らかな発現差は認められなかった。HDGF、HRP - 2 は、精巣に優位に発現しているが、他の種々臓器にも、普遍的に発現が認められている。HDGF は中でも、肝・腎・骨格筋に比較的強い発現が認められ、HRP - 1 は精巣にのみ発現が認められている。HRP - 3 は他の HDGF ファミリー蛋白同様に精巣に優位な発現が認められるも、脳、次に心臓に強い発現が認められ、HDGF ファミリー蛋白間に、その発現の組織分布に特徴が認められた。

また FISH 解析を行った。ヒト HDGF は X 染色体に存在することは既に明らかにされているが、今回発見した HRP - 3 はヒト 15 番染色体長腕 (chromosome 15, q25) に存在していた。

HRP - 3 の機能につき、検討を行った。HDGF が細胞増殖活性を有することから、HRP - 3 の細胞増殖能を、

[H3] -thymidine の取り込みを指標として検討した。HRP-3 を強制発現させた細胞は、親株及びベクターのみを発現させた細胞と比較して有意に高い増殖能をもっていた。

【総括】

新規な HDGF ファミリー分子である HRP-3 をクローニングした。ヒト及びマウスにおいて高いホモロジーを有していた。ヒト HRP-3 は主に、脳、精巣、心臓に発現していた。HRP-3 は NLS を有し、核へ移行し、HDGF 同様、細胞増殖に関与していると考えられた。以上より、HRP-3 は、細胞増殖能及び発現分布から脳神経系、心臓の分化増殖に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究において、新規 Hepatoma-derived growth factor (HDGF) ファミリー分子である HRP-3 が見い出され、HRP-3 の諸臓器における発現、ヒトでの染色体上の遺伝子座が明らかにされた。個々の HDGF ファミリー分子は、それぞれ臓器発現パターンに違いがみられるが、HRP-3 では脳、心臓、精巣に優位に発現されている点が示された。

更に細胞内局在、細胞増殖活性といった解析結果についても言及されており、これらは HDGF ファミリーの本質に関わる知見であって、注目に値する。細胞内局在の解析においては、固定した細胞を染色するのではなく、蛍光蛋白と HRP-3 との融合蛋白を発現させており、細胞が生きたままの状態を観察出来る利点を有している。この方法によって、他の HDGF ファミリー分子の 1 つである Lens epithelium-derived growth factor (LEDGF) では、細胞の温度条件によりその細胞内局在が変化することが証明されており、HRP-3 についても細胞内局在と機能発現との関連性など、今後の検討に有用な実験系を提供したものと考えられる。またそもそも HRP-3 は、HDGF ファミリーにおける構造的相同性から同定されたものであるが、その構造を共有する HDGF、LEDGF と同様に細胞増殖に関与するという知見は、HDGF ファミリーの構造と機能の相関を考える上で興味深く、今後の進歩にも期待を与えるものである。

現在、HDGFをはじめ、HDGF ファミリー分子については、それぞれその生理的役割、病的意義が次第に明らかにされてきており、今回新たなファミリー分子が同定され、その特性が明らかにされたことは、HDGF ファミリーの生理機能の解析に大きな貢献をもたらすものと考えられ、本論文は学位に値するものと認める。