

審査の結果の要旨

氏名 田中 康 弘

IDGFはセンチニクバエ胚由来細胞NIH-Sape-4の培養上清から精製された、構造上、新規な細胞増殖因子である。このことから、既知の細胞増殖因子とは異なる、IDGFによる新しい細胞増殖促進の分子機構の存在が考えられたが、その分子機構や生体内での機能はこれまで全く不明であった。

この論文は、IDGFによる細胞増殖促進の分子機構の解明を行うにあたり、IDGFが一次構造上、アデノシンデアミナーゼ(ADA)活性を持つことを見出し、実際にIDGFがADA活性を持つことを示し、さらに、そのADA活性がIDGFの細胞増殖促進活性に必須であることを明らかにしたことについて述べるものである。

まず、IDGFによる細胞増殖促進の分子機構を解明するための手がかりを得る目的で、その一次構造に注目した結果、IDGFのアミノ酸配列中に細胞内酵素であるADAの活性部位のアミノ酸残基が保存されていることを見出し、一次構造上、IDGFがADA活性を持つ可能性が考えられた。そこで、IDGFのリコンビナント蛋白を調製し、ADA活性を持つか否かを調べた結果、IDGFは既知の細胞内酵素であるADAとほぼ同程度のADA活性を持つことを明らかにした。このことは、ADAとして細胞外に分泌される初めての例である。

以上、この研究は昆虫由来細胞増殖因子IDGFがADA活性を持つことを見出し、その活性が細胞増殖促進活性に必須であることを明らかにした。これまで知られている細胞増殖因子のなかで、このようにADA活性を持ち、その活性が細胞増殖促進活性に必須であることが示された報告例は全くないことから、IDGFの機能解析を進めることにより、これまで知られていなかった、全く新しい細胞増殖促進の分子機構の存在を明らかにできるものと期待される。よって、博士(薬学)の学位に相当するものと判定した。

細胞増殖因子とは、もともと細胞の増殖や分化を促進する活性を持つ分子として同定されてきた分子であるが、現在では様々な現象に関与することが明らかにされており、その重要性が示されてきている。したがって、細胞増殖因子の同定、およびその作用の分子機構の解明や機能解析は発生、分化を始め様々な生命現象を細胞生物学的な観点から明らかにし、理解する上で大変重要である。

さらに、IDGFの機能を考察するため、その遺伝子の発現組織をRT-PCR法

により解析した。その結果、最終齢幼虫では IDGF は特に唾腺、体液細胞に強く発現していることが明らかとなった。

ところで、IDGF は細胞増殖因子であることを考えると、IDGF の持つ ADA 活性がその細胞増殖促進活性に関与する可能性を考えた。そこで、IDGF の持つ ADA 活性の増殖促進活性への関与の検討を行った。まず、ADA の特異的な阻害剤である 2'-deoxycoformycin (DCF)を用いて IDGF の ADA 活性を失活させたとき、その増殖促進活性に与える影響を調べた。その結果、DCF 依存に IDGF の ADA 活性が阻害されるとき、同様に増殖促進活性も阻害されることが分かった。さらに、site-directed mutagenesis により ADA 活性部位のアミノ酸残基を改変した、ADA 活性を持たない変異体 IDGF のリコンビナント蛋白を調製し、その増殖促進活性を測定した。その結果、変異体 IDGF は増殖促進活性を全く示さなかった。以上の結果から、IDGF の持つ ADA 活性がその増殖促進活性に必須であることが分かった。このことから、既知の細胞増殖因子とは異なる、IDGF による ADA 活性を介した全く新しい細胞増殖促進の分子機構の存在が示唆された。