

論文審査の結果の要旨

氏名 原 寛

本論文は2章からなり、第1章はラット再生肝で発現の亢進する新規遺伝子の分離とその遺伝子のコードするタンパク質ヘパソシンの性質について、第2章は、ヒト由来ヘパソシン遺伝子の分離とその遺伝子産物としてのヘパソシン・タンパク質の性質について述べられている。

ラット部分肝切除後に遺伝子発現の亢進する新規遺伝子ヘパソシンを分離した。この遺伝子は、314アミノ酸からなるタンパク質をコードするORFを含み、その内のN末端側の24アミノ酸はシグナル・ペプチドをコードしていた。サル腎細胞にこの遺伝子を導入してタンパク質を生産したところ、還元下で34kDaの、非還元下で66kDaの分子であった。一方、ラット・ヘパソシンの親水性部分ペプチド(22アミノ酸)を合成し、ウサギに免疫して抗ペプチド抗体を調製した。この抗体を活性化セファロースに結合して抗体カラムを作製した。本抗体カラムを用いて、ラット再生肝からタンパク質を抽出・精製して、ペプチド・シーケンス、電気泳動等で解析したところ、組換え型タンパク質の解析結果と一致した。組換え型タンパク質、天然型タンパク質共にラット初代培養実質肝細胞のDNA合成促進活性をもっていた。即ち、ラット・ヘパソシンは290アミノ酸からなるタンパク質のホモ2量体で構成されていることが示唆された。

次にラット・ヘパソシン遺伝子と83.8%の相同性をもつヒト・ヘパソシン遺伝子をヒト肝臓から分離したところ、312アミノ酸からなるタンパク質をコードするORFからなり、その内のN末端側22アミノ酸はシグナル・ペプチドをコードしていた。ヒト遺伝子をチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞に導入してタンパク質を生産した。得られたタンパク質は還元下34kDa、非還元下68kDaの分子であった。ヒト・ヘパソシンも290アミノ酸からなるタンパク質のホモ2量体で構成されていることが示唆された。この組換え型ヒト・ヘパソシン精製タンパク質もウサギ初代培養肝実質細胞のDNA合成促進活性を示した。また、このタンパク質を2-メルカプトエタノールで処理すると活性を失った。

ラット・ヘパソシン遺伝子mRNAは、1.4kbの長さで、肝臓に特異的に存在していた。さらに、肝臓中の肝実質細胞で発現しており、非実質細胞での発現は認められなかった。ヒト・ヘパソシン遺伝子は成人、胎児共に肝臓に多く存在するが、成人膵臓でも僅かに発現していた。ラット・ヘパソシン遺伝子は肝切除後、発現が亢進するが、このような物理的傷害時のみならず、D-ガラクトサミンを腹腔内投与して化学的傷害を惹起した場合でも発現が亢進していた。

ヘパソシンタンパク質は肝実質細胞から分泌され、自らの細胞のDNA合成促進を行っており、肝再生に重要な役割を果たしていることが示唆された。

このようにオートクラインに作用する肝実質細胞のDNA合成促進活性をもつ新規のタンパク質の存在が明らかとなった。今後、このタンパク質の作用をさらに検討することで、肝再生機構解明の一助となることが期待される。これら哺乳動物だけでなく、両生類、爬虫類、魚類等でのこのような遺伝子が存在するのか、存在するとしたらどのような作用を有するのか進化多様性の観点から興味深く、さらに研究を深く、広く発展させたい。

なお、本論文第1章は、内田さえこ、吉村広光、青木真理、豊田由美子、坂井慶子、森本繁夫(以上大正製薬)、深町博史、塩川光一郎(以上東京大学)、花田和紀(大正製薬)との、第2章は、吉村広光、内田さえこ、豊田由美子、青木真理、坂井慶子、森本繁夫(以上大正製薬)、塩川光一郎(東京大学)との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)を授与できると認める。