

氏名	いな がきの のぶ や 稲 垣 暢 也
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 1326 号
学位授与の日付	平成 4 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Gastric Inhibitory Polypeptide: Structure and Chromosomal Localization of the Human Gene (ヒト・GIP 遺伝子の構造, 遺伝子マッピング)
論文調査委員	(主 査) 教授 大熊 稔 教授 中西重忠 教授 井村裕夫

論 文 内 容 の 要 旨

gastric inhibitory polypeptide (GIP) はアミノ酸42個のセクレチン/グルカゴンファミリーに属する消化管ホルモンで、ブドウ糖濃度に依存してインスリン分泌を促進する作用を有することから、entero-insular axis の有力な因子と想定されている。そこで、GIP 遺伝子の発現調節機構を明らかにすべく、1) ヒト GIP 遺伝子をクローニングし、その遺伝子構造を解明するとともに、2) 染色体上の座位を明らかにし、3) プロット法により組織特異的発現について検討を加えた。4) さらに、セクレチン/グルカゴンファミリーに属する他の遺伝子とその構造を比較した。

1) ヒト・GIP 遺伝子の構造

ヒト・GIPcDNA フラグメントをプローブとして、ヒト genomic library より約100万個のクローンをスクリーニングし、3種類の異なる陽性クローンを得た。得られたクローンより制限酵素地図を作成したのち、各エクソン・イントロン境界域および5'上流域の塩基配列を決定した。ヒト・GIP 遺伝子は全長約10kbで、6個のエクソンと5個のイントロンにより構成される。エクソン1は5'側非翻訳領域を、エクソン2はシグナルペプチドとN端側ペプチドを、エクソン3はGIP部分の大部分を、エクソン4とエクソン5はC端側ペプチドを、エクソン6は3'側非翻訳領域をそれぞれコードしていることが明らかとなった。さらに、ヒト十二指腸より得られたRNAを用いて、primer-extension法により、ヒト・GIP 遺伝子の転写開始部位を明らかにした。5'上流域には“TATA” box や“CCAAT” box, Spl 結合配列, エンハンサー・コア配列のほかに、cAMP 反応性塩基配列 (CRE) や AP-1, AP-2の結合配列に類似する塩基配列も認められた。

2) ヒト・GIP 遺伝子の遺伝子マッピング

特定のヒト染色体が消失した数種のヒト×マウス雑種細胞より genomicDNA を抽出し制限酵素 BamHI で切断した後、ヒト・GIPcDNA をプローブとして Southern blotting を行い染色体を同定した。さらに、in situ ハイブリダイゼーション法を用い、ヒト・GIP 遺伝子は第17染色体長腕 q21.3→q22に局

在することを明らかにした。

3) GIP の組織特異的発現

ノザンプロッティング法により、ヒト各組織における GIP 遺伝子の発現について検討を加えた。GIP-mRNA の大きさは約 0.8kb で、十二指腸において強く発現が認められた。しかし、食道、胃噴門部、胃幽門部、大腸、肝臓、胆のう、膵臓では検出されなかった。以上より、GIP 遺伝子の発現は上部小腸に限局していることが強く示唆された。

4) 遺伝子構造の比較検討

GIP 以外のセクレチン/グルカゴンファミリーに属する、vasoactive intestinal polypeptide (VIP), growth hormone releasing factor (GRF) の遺伝子構造はすでに明らかにされているが、これらの遺伝子の全長は約 9~10kb と GIP 遺伝子とほぼ同じであり、グルカゴン遺伝子は 6 個、VIP 遺伝子は 7 個、GRF 遺伝子は 5 個のエクソンよりなっている。これらの遺伝子はそれぞれ、5'側非翻訳領域、シグナルペプチド、活性ペプチド、3'側非翻訳領域が異なったエクソン上に配列されており、さらにグルカゴン遺伝子においてはグルカゴンと GLP-1, GLP-2 が VIP 遺伝子においては VIP と PHM-27 が異なったエクソン上に直列に配列されている。このことから、GIP 遺伝子を含むこれら遺伝子は 5'側非翻訳領域、シグナルペプチド、活性ペプチドおよび 3'側非翻訳領域からなる共通の先祖遺伝子の増幅と、その後の活性ペプチドの配列を有するエクソンの重複により形成されたものと推測された。

論文審査の結果の要旨

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) は、ブドウ糖濃度に依存してインスリン分泌を促進する消化管ホルモンで、enteroinsular axis の有力因子と想定される。そこで、GIP 遺伝子の発現調節機構を解明すべく、ヒト GIP 遺伝子の構造を決定し、さらに組織特異的発現について検討した。ヒト GIP 遺伝子は全長約 10Kb で 6 個のエクソンと 5 個のイントロンで構成される。5'上流域には TATA ボックスや CCAAT ボックスの他、種々のエンハンサー配列が認められた。

さらに、この遺伝子が第 17 染色体長腕 q21.3→q22 に局在することを明らかにした。ノザンプロッティング法によって約 0.8Kb の GIP mRNA は十二指腸に限局して強い発現を認めた。GIP 遺伝子の構造は、同じファミリーに属するグルカゴンや VIP, GRF の構造と類似し、これら遺伝子が共通の先祖遺伝子に由来する可能性が示唆された。

以上の研究はヒト GIP 遺伝子の構造を解明し、GIP の生理の理解に寄与するところが多い。したがって本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 3 年 12 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。