

氏 名 野々口 耕 介
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学 位 記 番 号 医 博 第 2202 号
 学位授与の日付 平成 12 年 3 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 分 子 医 学 系 専 攻
 学位論文題目 Cloning of human cDNAs for Apg-1 and Apg-2, members of the Hsp 110 family, and chromosomal assignment of their genes.
 (Hsp 110 ファミリーのヒト Apg-1, Apg-2 のクローニングと, その染色体上の位置に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 清 水 章 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 藤 田 潤

論 文 内 容 の 要 旨

熱ショックタンパク質 (Hsp) は, もともと熱ショックにより誘導されるタンパク質として報告された。しかし, 熱ショック以外のストレス (低酸素や化学物質, 虚血など) でも発現が誘導されることが分かり, 総称してストレスタンパク質と呼ばれている。その後, 上記のようなストレスのない通常の状態でもストレスタンパク質は発現しており, その機能はタンパク質の折りたたみや凝集阻止ばかりでなく, 膜輸送や分解, 転写因子の調節, シグナル伝達やステロイドホルモン受容体やキナーゼの活性調節など, 細胞の正常な代謝や生存にとって必須の役割を担っていることがわかってきた。

その中で, Hsp 110 は, 哺乳類における 4 つの主要な Hsp (Hsp 28, Hsp 70, Hsp 90, Hsp 110) のひとつであり 20 年も前から認識されている。マウスにおいて Hsp 110 ファミリーは, Hsp 110/105, Apg-1/Osp 94, Apg-2 から構成されている。しかし, ヒトにおいては Hsp 110 群のメンバーとして Hsp 110 と, マウスの Apg-2 とよく似ているが短い二つの cDNA, HS 24/p 52 と Hsp 70 RY が報告されているのみである。

今回, 我々はヒト Hsp 110 群のメンバーを同定するためにヒト Apg-1, Apg-2 の cDNA をヒト精巣 cDNA ライブラリーから単離した。ヒト Apg-1 はマウス Apg-1 と比較するとアミノ酸数が同じ, アミノ酸配列では 91.8% の相同性があった。同じようにヒト Apg-2 はマウス Apg-2 とはアミノ酸数は一つ少ないがアミノ酸配列では 95.5% の相同性があった。ノーザンブロット解析により mRNA の発現組織を調べると, ヒト Apg-1 は, 精巣で強く発現していた。他の組織では非常に弱く発現していた。一方, ヒト Apg-2 は, いろいろな組織で発現していた。この結果はマウスやラットにおけるものと一致していた。

ついで, 熱による発現誘導をヒト血管内皮細胞株 ECV 304 を用いて解析した。32℃ から 39℃ への温度変化により 2 時間で Apg-1 転写産物が誘導され, 37℃ から 42℃ への変化による誘導よりも強かった。Apg-2 の発現は誘導されなかった。これらの結果は, マウスでの結果と一致していた。FISH 法による染色体マッピングで, Apg-1 遺伝子座は 4 q 28 に, Apg-2 遺伝子座は 5 q 23.3-q 31.1 にそれぞれ位置することが分かった。続いて, ヒト Apg-2 と HS 24/p 52 あるいは Hsp 70 RY との関係について調べた。まずヒト Apg-2 と HS 24/p 52 とを比べてみると, アミノ酸数では Apg-2 が 366 アミノ酸長い, Apg-2 の翻訳領域では 99% の塩基配列での一致があり, 5' 側, 3' 側の非翻訳配列でも, それぞれ 90%, 98.6% の相同性を持っていた。Hsp 70 RY と同様の関係であった。次に, Apg-2 と HS 24/p 52 とで異なっている領域を含む cDNA とゲノム DNA を単離した。共通の領域にプライマーを設定して PCR により得られたクローンの塩基配列を調べてみると, ゲノム DNA, cDNA とともに全て, Apg-2 と一致していた。同じ手法で Hsp 70 RY も調べてみたが, これも得られたクローンは全て Apg-2 と一致していた。

これらの結果からヒトにおける Hsp 110 ファミリーとして少なくとも Hsp 110, Apg-1, Apg-2 の 3 つが同定された。こ

れまでに報告のあった HS 24/p 52 と Hsp 70 RY については存在が確認できなかった。

論文審査の結果の要旨

熱ショックタンパク質 (Hsp) は熱ショック等のストレスだけではなく、ストレスのない状態でも細胞の代謝や生存にとって必須の役割を担っている。マウスの Hsp 110 ファミリーは Hsp 110, Apg-1, Apg-2 から構成されている。しかし、ヒト Hsp 110 ファミリーとしては、Hsp 110 と、マウスの Apg-2 と類似した HS 24 と Hsp 70 RY が報告されているのみであった。そこで本論文では、ヒト Apg-1, Apg-2 を単離し、ヒト Hsp 110 群のメンバーを同定した。

ヒト Apg-1 はマウス Apg-1 と比較すると 91.8%, ヒト Apg-2 はマウス Apg-2 と比較すると 95.5% のアミノ酸の相同性があった。ノーザンブロットにより mRNA の発現組織を調べると、ヒト Apg-1 は精巣で強く発現していた。一方、ヒト Apg-2 は、いろいろな組織で発現していた。FISH 法を用いた染色体マッピングにより、Apg-1 遺伝子座は 4 q 28 に、Apg-2 遺伝子座は 5 q 23.3-q 31.1 にそれぞれ位置することが示された。ヒト Apg-2 と HS 24 あるいは Hsp 70 RY との関係についてゲノム及び cDNA をクローニングして調べたが、HS 24, Hsp 70 RY の存在は確認できなかった。

これらの結果から、ヒト Hsp 110 ファミリーは、少なくとも Hsp 110, Apg-1, Apg-2 の 3 種からなることが示された。

以上の研究は、熱ショック蛋白質の構造と機能の解明に貢献しストレス生物学の医学への応用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 12 年 1 月 17 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。