【106】

氏名（本籍）	深水昭吉（東京都）
学位の種類	農学博士
学位記番号	博乙第528号
学位授与年月日	平成元年7月31日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Structure and Regulation of Human and Rat Renin Genes （ヒト及びラットレニン遺伝子の構造とその発現調節）

主査	筑波大学教授	農学博士	村上和雄
副査	筑波大学教授	農学博士	今川弘
副査	筑波大学教授	理学博士	新井勇治
副査	筑波大学助教授	農学博士	日下部功
副査	筑波大学助教授	農学博士	田仲可昌

論文の要旨

レニンは，血圧調節に重要な役割を演じる酵素である。ヒトレニンの一次構造は，分子生物学的手法により決定され，406個のアミノ酸より構成されていることが明らかになった。さらに，染色体上のレニン遺伝子の構造も正常細胞より単離され，10個のエクソンより構成されていることが判明した。しかし，ヒトレニン遺伝子の発現調節に関する研究は，その生理学的重要性にも拘らず，レニンを構成的に産生する細胞株が存在しないため，大きく立ち後れていた。そこで本論文は，レニン遺伝子の発現調節に焦点を絞り，ヒトレニン産生腫瘍組織，ラットを用いて，調節因子の推定を行った。

〔Ⅰ〕ヒトレニン産生腫瘍細胞のレニン遺伝子

ヒトレニン産生腫瘍の一つである傍糸球体細胞腫瘍から，RNAを抽出し，レニンmRNA（メッセンジャーRNA）の発現量を検定した。ノーザン法を用いて，正常腎のmRNAと比較したところ，約400倍の発現量が認められた。そこで，この発現の増加が遺伝子の構造変化によるのかどうかを調べるため，サザン法を用いて検討した。腫瘍細胞，正常腎，及び胎盤よりDNAを抽出し比較した結果，レニン遺伝子に大きな変化は認められなかった。さらに詳しい解析を行うため，腫瘍細胞DNAより遺伝子ライブラリーを作製し，レニン遺伝子の発現調節部位を単離した。5'上流域約1.6kbの塩基配列を決定した結果，正常細胞中のレニン遺伝子と同一であった。しかし，そのDNA上に，SV 40のエンハンサー及びポリオーマウィルスのエンハンサーと相同の配列をもつものが，そして，エストロゲン，グルココルチコイド，cAMPなどのホルモンにより調節を受ける可能性を示唆する配列が

見いだされた。特にウィルス由来のエンハンサーは，細胞の癌化に伴うレニン遺伝子の転写の活性化に関与する可能性が考えられる。正常細胞と腫瘍細胞におけるレニン遺伝子には変化がなかったことから，遺伝子をコントロールする細胞側の因子に変異が生じ，レニン遺伝子が活性化されることが予測された。

〔Ⅱ〕ラットレニン遺伝子の一次構造

ヒトレニン遺伝子の発現調節の解析は，ヒト細胞及び組織の入手が困難なため，より解析しやすい系を開発することが必要であった。そこで最も組織入手が容易な，そして実験動物として扱い易いラットを選定した。

ラット遺伝子ライブラリーより，ラットレニン遺伝子を単離し，構造決定を行った。全塩基配列を決定した結果，ラットレニン遺伝子は，12kbの長さをもち，9つのエクソンより構成されていることが明らかになった。さらにラットレニン遺伝子の5′上流1.2kbの塩基配列を決定した結果，SV40のエンハンサー，エストロゲン，グルココルチコイドなどの調節因子の存在を見いだした。さらに，遺伝子内に，特徴的な配列が存在した。イントロン1には，平均38bpの配列が46個縦列に並んだ繰り返し配列が存在した。またエクソン2近くに，アデニンが41個連続した領域が見いだされた。イントロン3には，54個のピリミジン残基に続いて，シトシン・アデニンの27回の繰り返し配列が存在した。このピリミジン・プリンの繰り返し配列は，癌細胞において見いだされているZ型DNAを形成するのに重要であり，遺伝子の発現調節に関与することが示唆されている。イントロン8には，ラット脳で特異的に発現する遺伝子のイントロンで見いだした配列に93％の相同性をもつ配列が存在した。ラットレニンは，脳細胞において発現することも知られており，脳発現に重要な役割をもつことが予想される。

〔Ⅲ〕ラットレニンとそのmRNAの卵巣及び子宮における発現

腎以外，特に生殖器官において，レニンが存在するかどうかは，その機能と共に注目されている。そこでラット卵巣及び子宮の抽出液より，レニン活性を測定したところ，レニンは不活性型として存在することが明らかになった。血中のレニンは，7割以上が不活性型である。逆に腎レニンは，8割が活性型であることが知られている。以上のことは，卵巣が血中の不活性型レニンの産生源であることを示唆するものである。さらに，卵巣及び子宮のmRNAをノーザン法で検定した結果，レニンmRNAがこれら生殖器官において発現していることが明かとなった。今まで卵巣におけるレニンの活性は，血中からの混入であるとも言われていた。しかし，卵巣自らレニン遺伝子を発現していることがあきらかになり，レニンの生殖器官における生理作用も再び注目されだした。また，卵巣レニンはエストロゲン投与によって，その活性が増加することから，遺伝子の転写調節との関わりも非常に密接であると考えられる。

審　査　の　要　旨

本論文は，ヒト及びラットレニン遺伝子の発現調節に焦点をあて，解析を行ったものである。ヒ

トレニン遺伝子は，腫瘍細胞から単離したものを用い，正常細胞のヒトレニン遺伝子と比較した。ラットレニン遺伝子は，全塩基配列を決定し，遺伝子内に潜む発現調節に重要な因子を示唆した。哺乳類遺伝子で，全構造を決定した例は極めて少なく，また，単離されているヒトレニン，２つのマウスレニン及びラットレニン遺伝子の中で初めて全構造を明らかにしたことは非常に高く評価できるものである。

よって著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。