

氏名(本籍)	おお さわ みつじろう 大澤 光次郎 (茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2956号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Zinc finger 蛋白 Gfi-1B による赤芽球の増殖制御 -赤芽球の分化・増殖における Gfi-1B の役割とその分子機構の解析-
主査	筑波大学教授 医学博士 山本 雅之
副査	筑波大学教授 医学博士 長澤 俊郎
副査	筑波大学助教授 理学博士 石井 哲郎
副査	筑波大学講師 医学博士 今川 重彦

論文の内容の要旨

(目的)

Gfi-1 および Gfi-1B 遺伝子は造血系に特異的に発現する転写因子として同定されたが、まだ、その作用の分子機構の詳細は不明である。本研究の目的は、多分化能を有する正常ヒト CD34 陽性の造血前駆細胞に、レトロウイルスを用いて Gfi-1 および Gfi-1B 遺伝子の導入を行い、造血細胞における新たな機能とその分子機構の解明にある。

(対象と方法)

1. 造血細胞における Gfi-1B および Gfi-1 遺伝子の発現解析は、ヒト骨髓および末梢血、マウス骨髓、脾臓および胸腺の各造血細胞系列を採取して、RT-PCR 法を用いて行った。
2. 造血細胞の分化、増殖における Gfi-1 遺伝子群の機能解析としては、レトロウイルスを用いてヒト CD34 陽性造血前駆細胞に遺伝子を導入し、コロニー形成試験、培養細胞の表現形解析、遺伝子および蛋白質の発現解析を行った。
3. Cyclin D1 の転写活性化における Gfi-1B の作用機構の解析には、Cyclin D1 プロモーターを用いたレポーターアッセイとゲルシフト実験とを行った。
4. ヒト白血病細胞における Gfi-1 遺伝子群および D type の cyclin 遺伝子群の発現解析は、RT-PCR 法を用いて行った。

(結果)

1. ヒトおよびマウスにおいて、Gfi-1 は血液細胞系列全般に発現しているのに対して、Gfi-1B は造血幹細胞を含む未分化細胞群、赤血球系および巨核球系細胞において特異的に発現していることが明らかになった。
2. ヒト CD34 陽性造血前駆細胞を用いたコロニー形成試験において、Gfi-1B 遺伝子導入細胞群はエリスロポエチン (EPO) 非存在下では対照群に認められない非常に大きな赤芽球コロニーを形成したが、このコロニーではヘモグロビン合成がほとんど認められなかった。一方、EPO 存在下では対照群と Gfi-1B 遺伝子導入群との間に赤血球コロニー数の有意な差は認められなかった。
3. Gfi-1 蛋白質群の欠失変異体を用いた実験より、Gfi-1 蛋白質群により赤芽球の増殖においては、SNAG 領域と

non-zinc 領域は必須でなく、zinc finger 領域が必要かつ十分であることが明らかとなった。

4. Gfi-1 蛋白質群により誘導される赤芽球において、細胞周期調節因子 Cyclin D1 蛋白質の発現が増加しており、ヒト Cyclin D1 遺伝子プロモーターを用いた解析から、Gfi-1 因子は NF- κ B 結合配列を介して、同遺伝子の転写を活性化させることが明らかになった。
5. ヒト白血病細胞における Gfi-1 遺伝子群と Cyclin D1 遺伝子の発現解析を行ったところ、赤白血病と真性赤血球増加症細胞の症例において、両遺伝子の発現は密接な相関性を示した。

(考察)

ヒト CD34 陽性の造血前駆細胞を用いた実験系から、Gfi-1B 蛋白質は赤芽球の増殖促進作用、成熟赤血球への分化抑制作用、さらに、骨髄球系細胞の増殖・分化抑制作用を持つことが示された。Gfi-1B による Cyclin D1 遺伝子の転写活性化は、NF- κ B 結合領域を介した間接的な作用であることから、Gfi-1 因子群は転写因子というよりは、DNA 非結合性の共役因子として働く可能性が示唆された。Gfi-1B の発現誘導は、正常造血よりもむしろ異常造血に関与している可能性がある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、新しい制御蛋白質 Gfi-1 因子群の造血細胞における発現と機能を詳細に解析したものであり、解析の質・量ともに十分であり、また、明解な結論も得られている。博士課程の研究として、高く評価される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。