

氏名(本籍)	おお 大	さき 崎	まさ 牧	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第2648号			
学位授与年月日	平成13年3月23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	造血系転写因子 GATA-2 の転写調整機構の解明			
主査	筑波大学教授	獣医学博士	八神健一	
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	山本三幸	

論文の内容の要旨

(目的)

造血幹細胞の発生や分化の分子機構を理解するうえで、GATA 転写因子群の一員である GATA-2 の発現を抑制するメカニズムの解明は重要である。本研究では、胎仔の発生段階特異的な GATA-2 遺伝子の発現制御領域をマウス個体レベルで同定することを目的とした。

(対象と方法)

マウス GATA-2 遺伝子の IS エクソンの上流域の段階的欠失体と緑色蛍光蛋白質 (GFP) レポーター遺伝子の融合遺伝子をトランスジーンとして、トランスジェニックマウスを作製し、蛍光実体顕微鏡に胎仔期の GFP 発現を検討し、さらにフローサイトメトリーを行い、GFP 陽性細胞が持つ細胞表面マーカーを検討した。

(結果)

- (1) 上流域 3,035bp までを連続して含む構築 E1 の Tg マウスでは、9.5 日胚 11 個体中 7 個体で 2 次造血の開始部位である背側大動脈、臍腸間膜動脈、臍帯動脈と横隔膜 (septum transversus) から para-aortic splanchnopleural mesoderm (PAS) にわたる領域 (以下 ST-PAS) に GFP の発現が観察された。E1 の 5' 側 25bp を除いた E3 構築の Tg マウスでは、GFP 陽性を示したものはなかった。
- (2) 上記の領域の中で、ヒトとマウスの間で保存性の高い mG2-2H 領域が、神経系では強く、造血系では弱い転写活性化能を示した。
- (3) IS プロモーターを HSP プロモーターに置換した構築の Tg マウスでは、造血系組織での GEP 発現は保たれていたが、それ以外に異所性発現が認められた。
- (4) GATA-1 欠失状態において GATA-2 の転写活性化が認められ、1 次造血組織では mG2-2H 領域が、2 次造血組織では IS プロモーターから上流 3,1Kbp の領域が「GATA-1 の欠失に応じた GATA-2IS プロモーターの過剰な転写活性化作用」の仲介領域として働いた。

(考察と結語)

GATA-2IS プロモーター上流域約 3.1Kbp の位置にある mG2-2H は、GATA-2 胎生 9.5 日での造血幹細胞での発現に必要な領域であり、その中の GATA と GATG 配列は背側大動脈での GATA-2 の発現に、CCTGCC 配列は、横隔膜から傍背側大動脈中胚葉にかけての領域での GATA-2 の発現に貢献していた。また、mG2-2H の領域は、1 次造血組織への GFP の発現について弱い促進性と抑制性の両方の機能を持つと考えられた。一方、mG2-2H 領域には中枢神経系での GATA-2 の発現を再現させる能力があった。組織特異性の規定には IS プロモーター領域も貢献していた。さらに、GATA-1 の欠失に伴う GATA-2 遺伝子制御領域下の GFP レポーター遺伝子の発現上昇が確認され、1 次造血組織では mG2-2H 領域が、2 次造血組織では IS プロモーターから上流 3.1Kbp の領域が GATA-1 欠失の効果を伝える責任領域であると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

GATA-2 は GATA 配列を認識する GATA 転写因子群の一員で、造血系前駆細胞において重要な機能を有していると考えられるが、GATA-2 の発現制御メカニズムや、GATA-2 の制御下にある因子は未だ十分に解明されていない。本研究は、胎仔の発生段階特異的な GATA-2 遺伝子の発現制御領域をトランスジェニックマウスを作製、解析することにより、個体レベルで同定したものである。特に、多くの遺伝子構築で作製した多数のトランスジェニックマウスを丹念に解析し、個体レベルで再現性の高い成績を得ている点は大きく評価できる。

実験の結果、胎児期の造血系組織における GATA-2 遺伝子の発現制御に重要な mG2-2H 領域を同定するとともに、GATA-2 遺伝子発現の組織特異性を規定する領域、GATA-1 欠失に反応して GATA-2 を過剰発現させる領域も明らかにした。今後、造血系における GATA 転写因子群の遺伝子発現調節ネットワークの解明につながる優れた論文である。

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。