【208】

氏　名（本籍）	伊　達　昌　一（大分県） （だて しょう いち）
学位の種類	博　　士（医　　学）
学位記番号	博　甲　第　3468　号
学位授与年月日	平成16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	**Cloning and functional analysis of zinc finger proteins that bind to 3'-regulatory element of human angiotensinogen gene** （ヒト・アンジオテンシノーゲン遺伝子の3'制御領域に結合するZnフィンガータンパクのクローニングと機能解析）

主　査	筑波大学教授	医学博士	有　波　忠　雄
副　査	筑波大学教授	医学博士	本　田　克　也
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	豊　島　秀　男
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	本　橋　ほづみ

論文の内容の要旨

（目的）

レニン・アンジオテンシン系は血圧制御，及び，電解質バランスの維持に重要な役割をはたす。アンジオテンシノーゲン（AGT）は同系の生理活性物質であるアンジオテンシンⅡの前駆体であり，AGT遺伝子の転写量が血圧と相関すること，AGT遺伝子が高血圧の原因遺伝子の一つであることが知られている。これまでの研究により，ヒトAGT遺伝子（hAGT）の下流に転写制御領域（d61-2）が肝細胞特異的な転写に重要であることが知られている。本論文はd61-2に結合する因子を探索し，その機能を明らかにすることを目的とした。

（対象と方法）

d61-2の一部を欠失させた配列を8コピーつないだものをプローブとしてHepG2 cDNA libraryを対象としてSouthwestern cloningを行った。Reporter assayはAGTプロモータとLuciferaseの融合reporterとeffectorをHepG2にco-transfectionして行った。Gel shift assayはDNA結合ドメインをGST融合蛋白として作成し，d61-2をprobeとして行った。Western blotは両因子特異的な抗体を作成し，HepG2の細胞抽出液を用いて行った。

（結果）

Southwestern cloningによりFinbとzinc finger motifを持つ新規の因子を得た。新規の因子をZep2（zinc finger motif enhancer binding protein 2）とした。特異的抗体を作製し，内在性のFinbを検出した。Finbは核に存在し，d61-2に結合し，その結合にはd61-2のGGATGG配列が重要で，hAGT遺伝子の最小プロモーターを抑制した。FinbはhAGT遺伝子プロモーター上の2ケ所に結合することも分かった。Zep2は新規の遺伝子でヒトの1p22に存在することが分かった。Zep2遺伝子は胎児期にも発現しており，また多くの組織

で発現していたが，特に骨格筋での発現が顕著であった。細胞では核，細胞質ともに局在していた。Zep2 は d61-2 に結合し，hAGT 遺伝子の最小プロモーターを抑制した。

(考察)

Finb による転写抑制機構は転写活性化因子との競合による passive repression mechanism と考えられる。Zep2 の多様な局在は，局在を調節する何らかの要因が存在し，それが Zep2 の機能も調節していると考えられる。d61-2 に結合する因子として，Finb と新規因子である Zep2 をクローニングし，hAGT 遺伝子に対して，配列特異的な転写抑制因子として機能することを明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

AGT 遺伝子の発現の調節はヒトの血圧に関連しており，hAGT 遺伝子の発現を制御する因子の同定は意義深いものである。先行研究により d61-2 はヒト AGT 遺伝子の 3' 側にあってエンハンサーエレメントとして発見されたものであり，この研究の本来の目的は d61-2 に結合して，転写を促進する因子の検出であったが，逆に抑制する因子の発見となった。しかし，転写は促進・抑制両面から制御を受けており，本論文で記述された研究成果は意味深いものであると判断された。

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。