

氏名(本籍)	たか はし えい き 高橋英機(広島県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2415号
学位授与年月日	平成12年3月24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	Neuron-specific expression of reporter gene in transgenic mice carrying the 5,-upstream region of mouse P/Q-type Ca ²⁺ channel α_{1A} subunit gene fused to <i>E.coli</i> lacZ reporter gene (マウスP/Qタイプカルシウムチャンネル α_{1A} サブユニット遺伝子の発現調節領域の解析)
主査	筑波大学教授 医学博士 山本雅之
副査	筑波大学教授 理学博士 久野節二
副査	筑波大学教授 博士(医学) 梶正幸
副査	筑波大学助教授 医学博士 高橋智

論文の内容の要旨

(目的)

P/QタイプのCa²⁺チャンネル α_{1A} サブユニットは神経伝達物質の放出などに関与する電位依存性Ca²⁺チャンネルのサブユニットの一つであり、神経細胞や副腎髄質細胞などに特異的に発現している。本研究では、 α_{1A} サブユニット遺伝子の空間的・時間的に特異的な発現制御機構を解明するために、トランスジェニックマウスを用いた遺伝子制御領域の解析を行った。

(対象と方法)

1. マウスの α_{1A} サブユニット遺伝子の転写開始点より上流, 0.5kb, 1.5kb, 3.0kb, 6.3kbの下流にlacZ遺伝子を連結したレポーター遺伝子をそれぞれマウス受精卵に研微注入して, トランスジェニック (TG) マウスを作製した。
2. 作製したTGマウスの脳, 心, 脾, 肺, 肝, 腎, 副腎での導入遺伝子の発現を β -gal活性を指標に検討した。
3. レポーター活性が認められたTGマウスについては, さらに詳しい組織学的解析を加えた。

(結果)

1. $\alpha_{1A}0.5$ -lacZで2系統, $\alpha_{1A}1.5$ -lacZで2系統, $\alpha_{1A}3.0$ -lacZで7系統, $\alpha_{1A}6.3$ -lacZで4系統のTGマウスを作製した。
2. いずれの構築でも, レポーター遺伝子の発現は, 心, 脾, 肺, 肝, 腎では全く認められなかった。
3. 脳でのレポーター遺伝子の発現は, $\alpha_{1A}1.5$ -lacZの1系統, $\alpha_{1A}3.0$ -lacZの3系統, $\alpha_{1A}6.3$ -lacZの3系統で発現が認められた。また, 副腎でのレポーター遺伝子の発現は $\alpha_{1A}6.3$ -lacZの2系統で認められた。
4. 組織学的解析では, $\alpha_{1A}1.5$ -lacZの1系統では, 嗅球の僧帽細胞, 大脳背側皮質, 海馬で導入遺伝子の発現が認められ, $\alpha_{1A}3.0$ -lacZでは, それに加えて, 扁桃核, 中隔, 内側手網核, 脈絡叢, 黒質, 下丘, 橋核, 小脳顆粒細胞, 小脳籠細胞でレポーター遺伝子の発現が認められた。また, $\alpha_{1A}6.3$ -lacZでは副腎髄質細胞でも導入遺伝子の発現が認められた。

5. 導入遺伝子の発現はポジション効果の影響を受けており、同じ構築のTGマウスでも、発現に差があった。

(考察)

上述の結果から、 α_{1A} 遺伝子の発現は正の制御領域と負の制御領域が複雑に組合わさっていることが示唆される。in situ hybridization 解析の結果をみると、本遺伝子の発現は大脳皮質に広く分布しており、そのことから、本実験に用いた領域のみでは、本来の制御因子を完全に包含していない可能性がある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、トランスジェニックマウス法を用いて、P/QタイプのCa²⁺チャンネルの α_{1A} サブユニット遺伝子発現制御領域を調べたものであり、従来の培養細胞への一過性遺伝子導入・発現系では窺いしれない、精密な制御機構の解析に挑んだ点で、高く評価される。しかし、下記の審査委員会では、同時に、解剖学用語の不正確な点や発生工学の説明の不足が指摘され、その点の改訂を勧められた。また、本解析はまだ進行途上であり、一応の結論を得たに過ぎない点も指摘された。

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。