

転写因子遺伝子導入による 疾患感受性制御法の開発

(課題番号 09557010)

平成9年度－平成10年度科学研究費補助金
基盤研究 (B) (2) 研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 山本雅之
(筑波大学 基礎医学系教授)

寄	贈
山	平
本	成
雅	年
之	月
氏	日

はじめに

遺伝子発現を制御する転写因子は、個体の発生・分化、さらに、生体の恒常性の維持、外界からのストレスに対する応答反応に必須の役割をはたしている。近年、我々は転写因子 Nrf2 が酸化ストレスに対する応答反応において必須の因子であることを明らかにした。一方、微生物感染や異物の生体内への侵入に対する免疫応答反応にも、多くの転写因子が重要な機能をはたしていることが報告されつつある。

ヒトがある疾患に罹患するか否かを決定する疾患感受性は、こうした免疫応答反応を担うリンパ球の機能と深く関係していることは以前から示されてきたが、近年、特に T 細胞のサブセットのバランスと密接に関連していることが示された。さらに、Maf 群転写因子の 1 つである c-Maf が T 細胞の分化方向決定に重要であることが報告され、疾患感受性の決定機構に c-Maf が重要であることが予想された。

そこで、我々は、T 細胞において c-Maf を過剰に発現するトランスジェニックマウスの作成と、c-Maf 遺伝子破壊により c-Maf 欠損マウスの作成を行い、T 細胞の分化と疾患感受性に対する影響を検討することを試み、転写因子を利用して疾患感受性の是正をはかるという新しい治療方法への模索を行った。

研究組織

研究代表者 : 山本雅之 (筑波大学 基礎医学系・教授)

研究分担者 : 高橋智 (筑波大学 基礎医学系・講師)

研究経費

平成 9 年度	7,600 千円
平成 10 年度	4,900 千円
計	12,500 千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Minegishi, N., Morita, S., Minegishi, M., Tsuchiya, S., Konno, T., Hayashi, N. and Yamamoto, M., Expression of GATA transcription factors in myelogenous and lymphoblastic leukemia cells. *Int. J. Hematol.* 65, 239-249 (1997).
2. Nagai, M., Nagai, T., Yamamoto, M., Goto, K., Bishop, T.R., Hayashi, N., Kondo, H., Seyama, Y., Kano, K., Fujita, H. and Sassa, S., Novel regulation of δ -aminolevulinatase synthase in the rat Harderian gland. *Biochem. Pharmacol.*, 53, 643-650 (1997).
3. Onodera, K., Yomogida, K., Suwabe, N., Takahashi, S., Muraosa, Y., Hayashi, N., Ito, E., Gu, L., Rassoulzadegan, M., Engel, J.D. and Yamamoto, M., Conserved structure, regulatory elements and transcriptional regulation from the GATA-1 gene testis promoter. *J. Biochem.* 121, 251-263 (1997).
4. Toki, T., Itoh, J., Kitazawa, J., Arai, K., Hatakeyama, K., Akasaka, J., Igarashi, K., Nomura, N., Yokoyama, M., Yamamoto, M. and Ito, E., Human small Maf proteins form heterodimers with CNC family transcription factors and recognize NF-E2 motif. *Oncogene* 14, 1901-1910 (1997).
5. Nagai, T., Harigae, H., Furuyama, K., Munakata, H., Hayashi, N., Endo, K., Sassa, S. and Yamamoto, M., 5-Aminolevulinatase synthase expression and hemoglobin synthesis in a human myelogenous leukemia cell line. *J. Biochem.* 121, 487-495 (1997).
6. Imagawa, S., Yamamoto, M. and Miura, Y., Negative regulation of the erythropoietin gene expression by the GATA transcription factors. *Blood* 89, 1430-1439 (1997).
7. Takahashi, S., Onodera, K., Motohashi, H., Suwabe, N., Yanai, N., Hayashi, N., Nabeshima, Y. and Yamamoto, M., Arrest in erythroid cell development by promoter-specific disruption of GATA-1 gene. *J. Biol. Chem.* 272, 12611-12615 (1997).
8. Onodera, K., Takahashi, S., Nishimura, S., Ohta, J., Motohashi, H., Yomogida, K., Hayashi, N., Engel, J.D. and Yamamoto, M., GATA-1 transcription is controlled by distinct regulatory mechanisms during primitive and definitive erythropoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 4487-4492 (1997).
9. Furuyama, K., Fujita, H., Nagai, T., Yomogida, K., Munakata, H., Kondo, M., Kuramoto, A., Hayashi, N. and Yamamoto, M., Pyridoxine refractory X-linked sideroblastic anemia caused by a point mutation in the erythroid 5-aminolevulinatase synthase gene. *Blood* 90, 822-830 (1997).
10. Tanabe, A., Furukawa, T., Ogawa, Y., Yamamoto, M., Hayashi, N., Tokunaga, R. and Taketani, S., Involvement of the Transcriptional Factor GATA-1 in Regulation of Expression of Coproporphyrinogen Oxidase in Mouse Erythroleukemia Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 233, 729-736 (1997).
11. Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., Oyake, T., Hayashi, N., Satoh, K., Hatayama, I., Yamamoto, M. and Nabeshima, Y., An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant responsive elements. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236, 313-322 (1997; corresponding author).
12. Yamamoto, M., Takahashi, S., Onodera, K., Muraosa, Y. and Engel, J.D., Upstream and downstream of erythroid transcription factor GATA-1. *Genes to Cells* 2, 107-115 (1997; invited review).
13. Motohashi, H., Shavit, S., Igarashi, K., Yamamoto, M. and Engel, J.D., The world according to Maf. *Nucleic Acids Res.* 25, 2953-2959 (1997, invited review and cover

- photo)
14. Yamaguchi, Y., Zon, L.I., Ackerman, S.J., Yamamoto, M., Suda, T., Forced GATA-1 expression in the murine myeloid cell line M1: Induction of c-Mpl expression and megakaryocytic/erythroid differentiation. *Blood* 91: 450-457 (1998).
 15. Harigae, H., Suwabe, N., Weinstock, P.H., Nagai, M., Fujita, H., Yamamoto, M. and Sassa, S., Deficient heme and globin synthesis in ES cells lacking the erythroid-specific δ -aminolevulinate synthase gene. *Blood* 91, 798-805 (1998).
 16. Minegishi, N., Ohta, J., Suwabe, N., Nakauchi, H., Ishihara, H., Hayashi, N. and Yamamoto, M., Alternative promoters regulate transcription of the mouse GATA-2 gene. *J. Biol. Chem.* 273, 3625-3634 (1998).
 17. Nagai, T., Igarashi, K., Akasaka, J., Furuyama, K., Fujita, H., Hayashi, N., Yamamoto, M. and Sassa, S., Regulation of NF-E2 activity in erythroleukemia cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 273, 5358-5365 (1998).
 18. Kuroha, T., Takahashi, S., Komeno, T., Itoh, K., Nagasawa, T. and Yamamoto, M., Ablation of Nrf2 function does not embellish erythroid or megakaryocytic cell lineage dysfunction caused by p45 NF-E2 gene disruption. *J. Biochem.* 123, 376-379 (1998).
 19. Yamaguchi, Y., Ackerman, S.J., Minegishi, N., Takiguchi, M., Yamamoto, M. and Suda, T., Mechanisms of transcription in eosinophils: GATA-1, but not GATA-2, transactivates the promoter of the eosinophil granule major basic protein gene. *Blood* 91, 3447-3458 (1998).
 20. Takahashi, S., Komeno, T., Suwabe, N., Yoh, K., Nakajima, O., Nishimura, S., Kuroha, T., Nagasawa, T. and Yamamoto, M., Role of GATA-1 in proliferation and differentiation of definitive erythroid and megakaryocytic cells in vitro. *Blood* 92, 434-442 (1998).
 21. Harigae, H., Takahashi, S., Suwabe, N., Ohtsu, H., Gu, L., Yang, Y., Tsai, F. Y., Kitamura, Y., Engel, J.D. and Yamamoto, M., Differential roles of GATA-1 and GATA-2 in growth and differentiation of mast cells. *Genes Cell* 3, 39-50 (1998).
 22. Igarashi, K., Hoshino, H., Muto, A., Suwabe, N., Nishikawa, S., Nakauchi, H. and Yamamoto, M., Multivalent DNA binding complex by small Maf and Bach1 as a possible biochemical basis for β -globin locus control region holocomplex. *J. Biol. Chem.* 273, 11783-11790 (1998).
 23. Shavit, J.A., Motohashi, H., Onodera, K., Akasaka, J-e., Yamamoto, M. and Engel, J.D., Impaired megakaryopoiesis and behavioral defects in *mafG*-null mutant mice. *Genes Dev.* 12, 2164-2174 (1998).
 24. Cohen-Kaminsky, S., Maouche-Chretien, L., Vitelli, L., Vinit, M.A., Blanchard, I., Yamamoto, M., Peschle, C. and Romeo, P.H., Chromatin immunoselection defines a TAL-1 target gene. *EMBO J.* 17, 5151-5160 (1998).
 25. Muto, A., Hoshino, H., Madisen, L., Yanai, N., Obinata, M., Karasuyama, H., Hayashi, N., Nakauchi, H., Yamamoto, M., Groudine, M. and Igarashi, K., Identification of Bach2 as a B cell-specific partner for small Maf proteins that negatively regulates immunoglobulin heavy chain 3' enhancer. *EMBO J.* 17, 5734-5743, (1998).
 26. Iwata, T., Kogame, K., Toki, T., Yokoyama, M., Yamamoto, M. and Ito, E., Structure and chromosome mapping of the human small maf genes MAFG and MAFK. *Cytogenet. Cell Genet.* 82, 88-90 (1998).
 27. Yamada, T., Kihara-Negishi, F., Yamamoto, H., Yamamoto, M., Hashimoto, Y. and Oikawa, T., Reduction of DNA binding activity of the GATA-1 transcription factor in the apoptotic process induced by overexpression of PU.1 in murine erythroleukemia cells. *Experiment. Cell Res.* 245, 186-194 (1998).
 28. Takahashi, S-i., Taketani, S., Akasaka, J-e., Kobayashi, A., Hayashi, N., Yamamoto, M.

- and Nagai, T., Differential regulation of mouse coproporphyrinogen oxidase gene expression in erythroid and non-erythroid cells. *Blood* 92, 3436-3444 (1998).
29. Suwabe, N., Takahashi, S., Nakano, T. and Yamamoto, M., GATA-1 regulates growth and differentiation of definitive erythroid lineage cells during *in vitro* ES cell differentiation. *Blood* 92, 4108-4115 (1998).
 30. Motohashi, H., Ohta, J., Engel, J.D. and Yamamoto, M. A core region of the *mafK* gene I_N promoter directs neuron-specific transcription *in vivo*.. *Genes Cell* 3, 617-684 (1998).
 31. Zhou, Y., Lim, K-C., Onodera, K., Takahashi, S., Ohta, J., Minegishi, N., Tsai, F-Y., Orkin, S-H., Yamamoto, M. and Engel, J.D., Rescue of the embryonic lethal hematopoietic defect reveals a critical role for GATA-2 in urogenital development. *EMBO J* 17, 6689-6700 (1998).
 32. Furuyama, K., Uno, R., Urabe, A., Hayashi, N., Fujita, H., Kondo, M., Sassa, S. and Yamamoto, M., R411C mutation of the ALAS2 gene encodes a pyridoxine-responsive enzyme with low activity. *British J. Haematol.* 103, 839-841 (1998).
 33. Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J.D. and Yamamoto, M., Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the N-terminal Neh2 domain. *Genes Dev.* 13, 76-86 (1999).
 34. Kobayashi, A., Itoh, E., Toki, T., Takahashi, S-i, Igarashi, K., Hayashi, N. and Yamamoto, M., Molecular cloning and functional characterization of a new CNC family transcription factor Nrf3. *J. Biol. Chem.* in press
 35. Minegishi, N., Ohta, J., Engel, J.D. and Yamamoto, M., The mouse GATA-2 gene is expressed in the aorta-gonads-mesonephros region. *Blood*, in press
 36. Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Kato, Y., Bannai, S. and Yamamoto, M., Transcription factor Nrf2 coordinately regulates oxidative stress-inducible genes responsible for the electrophile counterattack response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* in revision

(2) 口頭発表

1. 峯岸直子, 太田 潤, 林 典夫, 山本雅之. マウス GATA-2 遺伝子の発現, プロモーター構造および細胞特異的発現制御機構の解析. 第 59 回 日本血液学会総会ワークショップ, 京都市, 1997 年 3 月 26 日
2. 高橋 智, 諏訪部徳芳, 太田 潤, 西村滋子, 中島 修, 楊 景堯, 山本雅之. ジーンターゲットによる GATA-1 遺伝子のプロモーターおよび機能解析. 第 70 回日本生化学会大会, 金沢大学, 1997 年 9 月 23 日
3. 田畑雅彦, 今川重彦, 大嶺 謙, 樽本高壽, 三浦恭定, 山本雅之. 酸素センサーを介するエリスロポエチン遺伝子発現制御機構. 第 70 回日本生化学会大会, 金沢大学, 1997 年 9 月 23 日
4. 五十嵐和彦, 星野英人, 山本雅之. LCR 結合因子 Bach1 の多量体形成能の解析. 第 70 回日本生化学会大会, 金沢大学, 1997 年 9 月 24 日
5. 赤坂純逸, 本橋ほづみ, 勝岡史城, 山本雅之, 林 典夫. マウス mafG 遺伝子および mafF 遺伝子のクローニング. 第 70 回日本生化学会大会, 金沢大学, 1997 年 9 月 24 日
6. 高橋知己, 諏訪部徳芳, 戴 平, 山本雅之, 石井俊輔, 仲野 徹. GATA-1 のコアクチベータとしても機能する CBP の血球分化における役割. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 16 日
7. 今川重彦, 田畑雅彦, 大嶺 謙, 樽本高壽, 三浦恭定, 山本雅之. 酸素センサーを介するエリスロポエチン遺伝子発現制御機構. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 16 日
8. 山田俊幸, 根岸 (木原) 文子, 山本雅之, 及川恒之. PU.1 過剰発現によるマウス赤血球病 (MEL) 細胞のアポトーシスへの赤血球特異的転写因子の関わり. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 16 日
9. 小宅達也, 星野英人, 林 典夫, 山本雅之, 五十嵐和彦. BTB-bZip 型転写因子 Bach2 の細胞内局在は 3 ケのドメインにより制御される. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
10. 今川重彦, 田畑雅彦, 大嶺 謙, 樽本高壽, 三浦恭定, 山本雅之. 酸素センサーを介するエリスロポエチン遺伝子発現制御機構. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
11. 五十嵐和彦, 星野英人, 武藤哲彦, 山本雅之. LCR 調節エレメント間のコミュニケーション因子としての Bach1 の機能. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
12. 峯岸直子, 太田 潤, 諏訪部徳芳, 中内啓光, 林 典夫, 山本雅之. GATA-2 の血液細胞における発現を司る新しいプロモーターの構造と機能. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
13. 太田 潤, 峯岸直子, 高橋 智, 諏訪部徳芳, 林 典夫, 山本雅之. マウス GATA-2 遺伝子の発現とその転写調節の個体レベルでの解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
14. 加藤恭丈, 伊東 健, 山本雅之. Nrf2 蛋白質と相互作用する転写因子の同定と解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997 年 12 月 17 日
15. 本橋ほづみ, 太田 潤, 勝岡史城, 中福雅人, 山本雅之. マウス mafK 遺伝子の 2 つのプロモーターによる転写制御機構の解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際

- 会館, 1997年12月17日
16. 武藤哲彦, 星野英人, 中内啓光, 矢内信昭, 帯刀益夫, 山本雅之, 五十嵐和彦. BTB-bZip 型転写因子 Bach2 の B 細胞特異的および分化段階特異的発現. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 17. 星野英人, 本橋ほづみ, 山本雅之, 五十嵐和彦. BTB-bZip 型転写因子 Bach2 の神経分化過程における発現解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 18. 諏訪部徳芳, 高橋 智, 仲野 徹, 山本雅之. ES 細胞試験管何分化誘導法による GATA-1 ノックダウン変異の解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 19. 西村滋子, 高橋 智, 太田 潤, 長澤俊郎, 山本雅之. マウス GATA-1 遺伝子の上流エンハンサーについての解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 20. 中島 修, 楊 景堯, 小野寺浩, 蓬田健太郎, 山本雅之, 高橋 智. トランスジェニックマウスを用いたマウス GATA-1 遺伝子の精巣での発現調節の解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 12月18日
 21. 高橋 智, 諏訪部徳芳, 太田 潤, 西村滋子, 中島 修, 楊 景堯, 山本雅之. プロモーター特異的ジエンターゲティングによる GATA-1 遺伝子の発現制御および機能解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 22. 川内紫真子, 荻野 肇, 山本雅之, 安田國雄. 水晶体形成過程におけるマウス c-Maf 遺伝子の発現解析. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 23. 高橋知己, 諏訪部徳芳, 戴 平, 山本雅之, 石井俊輔, 仲野 徹. GATa-1 のコアクテバータとしても機能する CBP の血球分化における役割. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 24. 高橋伸一郎, 永井 正, 竹谷 茂, 赤坂純逸, 山本雅之, 林 典夫. マウスコプロポルフィリノーゲンオキシターゼ遺伝子の構造と発現調節. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月18日
 25. 永井 正, 古山和道, 高橋伸一郎, 林 典夫, 佐々 茂, 山本雅之. ヒト赤血球型 5'-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子プロモーターの構造と機能. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月19日
 26. 石井哲郎, 伊東 健, 佐藤英世, 柳川 徹, 高橋 智, 坂内四郎, 山本雅之. ヘムオキシゲナーゼ, ペルオキシレドキシシン MSP23 と A170 タンパク質の酸化ストレス剤による誘導は転写因子 Nrf2 に依存している. 第 70 回日本分子生物学会年回, 国立京都国際会館, 1997年12月19日
 27. 楊 景堯, 高橋 智, 本橋ほづみ, 菅原剛彦, 高浜洋介, 山本雅之. T細胞の発生・分化における Maf 群蛋白の役割. Kyoto T Cell Conference, 京大会館, 1998年10月8日
 28. 伊東 健, 石井哲郎, 山本雅之. 転写因子 Nrf2 による酸化ストレス応答系の統一的な制御. 第 71 回日本生化学会大会, 名古屋国際会議場, 1998年10月14日
 29. 高橋 智, 西村滋子, 諏訪部徳芳, 清水律子, 山本雅之. Functional analysis of GATA-1 *in vivo*. 第 71 回日本生化学会大会, 名古屋国際会議場, 1998年10月14日
 30. 石井哲郎, 伊東 健, 赤坂純逸, 柳川 徹, 佐藤英世, 高橋 智, 坂内四郎, 山本雅之. BHA によるペルオキシレドキシシン MSP23 のマウス小腸と肝臓における発現誘導機構. 第 71 回日本生化学会大会, 名古屋国際会議場, 1998年10月14日

31. 樽本高寿, 大嶺 謙, 小澤敬也, 鈴木教郎, 山本雅之, 樋口正人, 今井信雄, 今川重彦. L-NMMA によるエリスロポエチン遺伝子発現抑制が腎性貧血の一因である. 第 71 回日本生化学会大会, 名古屋国際会議場, 1998 年 10 月 14 日
32. 吉田近思, 徳舛富由樹, 法巴賢一, 林 典夫, 長澤俊郎, 山本雅之, 竹安邦夫, 五十嵐和彦. 構造転写因子 Bach/ β グロビン LCR 複合体の原子間力顕微鏡を用いた可視化. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
33. 石井哲郎, 伊東 健, 柳川 徹, 山本雅之, 坂内四郎. プロテアソーム阻害剤によるストレスタンパク質 A170 と HO-1 の誘導機構. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
34. 武藤哲彦, 星野英人, Linda Madisen, 山本雅之, Mark Groudine, 林 典夫, 五十嵐和彦. Bach2 と小 Maf 因子による抗体重鎖遺伝子の転写調節. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
35. 小林 聡, 山際浩徳, 武藤哲彦, 餅田みゆき, 星野英人, 山本雅之, 林 典夫, 五十嵐和彦. Bach2 の BTB ドメインと相互作用する FOB の機能解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
36. 餅田みゆき, 小林 聡, 山際浩徳, 山本雅之, 林 典夫, 五十嵐和彦. Bach 結合因子の FOB の BTB ドメインの機能. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
37. 勝岡史城, 本橋ほづみ, 山本雅之. マウス *mafK* 遺伝子の造血細胞における発現制御領域の個体レベルでの同定. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
西村滋子, 高橋 智, 太田 潤, 長澤俊郎, 山本雅之. マウス GATA-1 遺伝子の上流エンハンサーについての解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
38. 樽本高寿, 今川重彦, 大嶺 謙, 永井 正, 鈴木教郎, 山本雅之, 樋口正人, 今井信夫, 小澤敬也. 腎性貧血の新たな機序: L-NMMA によるエリスロポエチン遺伝子発現抑制. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日
39. 吉田近思, 徳舛富由樹, 法巴賢一, 林 典夫, 長澤俊郎, 山本雅之, 竹安邦夫, 五十嵐和彦. 構造転写因子 Bach/ β グロビン LCR 複合体の原子間力顕微鏡を用いた可視化. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 17 日 (ポスター)
40. 馬上賢輔, 那波明宏, 水野重樹, 山本雅之, 西森克彦. 転移関連遺伝子 MTA1 の機能解明. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 18 日
41. 中島 修, 高橋 智, 古山和道, 張替秀郎, 佐々 茂, 山本雅之. 赤血球型 5-アミノレプリン酸合成酵素の遺伝子ターゲティング. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 19 日
42. 高橋知巳, 諏訪部徳芳, 戴 平, 姜 惠杰, 山本雅之, 石井俊輔, 仲野 徹. C-Myb と GATA-1 との相互抑制および転写仲介因子 CBP の血液細胞分化における役割. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 19 日
43. 正寄-永田由香, 高橋 智, 長澤俊郎, 山本雅之, 戸所一雄. ES 細胞の *in vitro* 分化誘導系を用いた血小板放出機構の解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 19 日
44. 守田匡伸, 中島 修, 高橋 智, 島貫智匡, 小林 聡, 山本雅之, 藤井義明. GC box 結合転写因子 BTEB の発現解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 1998 年 12 月 19 日

研究成果

(1) 要約

本基盤研究において、以下の2点を達成した。

- 1) T細胞特異的に c-Maf を過剰発現するトランスジェニックマウスを作成し、その中から効率良く Th2 サブセットを誘導できるラインを同定した。
- 2) c-Maf 遺伝子を破壊（ターゲティング）したマウスを作成した。

(2) 目的

本研究は、転写因子を利用して疾患感受性を是正するという新しい治療法のモデルの開発を目的としたものである。疾患感受性の決定には T 細胞サブセットのバランス (Th1/Th2 の比) が重要であるということが、近年明らかにされつつある。また、Maf 群転写因子の一つ c-Maf が、IL-4 遺伝子の活性化を通じて T 細胞サブセットの一つ、Th2 細胞を誘導するという報告もなされている。そこで、c-Maf を利用して Th1/Th2 の比を変化させ、さらに、疾患感受性を変化させることを目的として、以下の実験を行った。

(3) 方法と結果

- 1) c-Maf を T 細胞特異的に発現するトランスジェニックマウスの作成。

T細胞特異的に機能する CD2 と LCK 遺伝子の制御領域を利用して、c-Maf を T細胞特異的に発現させるための構築を作成した。このプラスミドをマウス受精卵に導入し、トランスジェニックマウスを作成した。その結果、本マウスにおいて、T細胞サブセットが Th2 優位になっていることを示唆する血清学的な解析結果が得られた。また、このマウスは、8-10ヵ月以上の加齢によりリンパ腫を好発することも明らかになった。一方、転写活性化領域を欠失する小 Maf 群転写因子である MafK を c-Maf に対するドミナントネガティブな分子として利用して、マウス個体において c-Maf と同様に T細胞特異的に過剰発現させたところ、このマウスにおいては T細胞の分化が抑制されるという結果が得られた。これらの結果から、c-Maf の過剰発現によ

ってT細胞サブセットがTh2に傾くこと、また、c-Maf もしくは他の Maf 群蛋白質がT細胞の分化に重要であり、MafK の作用点は Th1/Th2 サブセットの完成の前段階にあることが示唆される。今後は、これらのトランスジーンを自己免疫疾患自然発症マウスへ導入して、疾患感受性の変化が起こりえるかを検討する。

2) マウスにおける c-maf 遺伝子破壊実験.

ジーンターゲティングの手法を用いて、マウスにおける c-maf 遺伝子の破壊を行った。c-Maf 欠損マウスは、多くが胎生後期で致死であり、すべての個体が水晶体の形成異常を示した。T細胞の異常について今後解析を行う予定である。

(4) 考察

本研究において、我々は、マウス個体レベルでc-MafがT細胞サブセットのバランスの決定に寄与していることを明らかにした。また、MafKがT細胞分化の初期の段階で抑制的な効果を持ち得たことは、MafKと相互作用を持つ蛋白質(Maf群、CNC群、Jun群、Fos群蛋白質)の機能が障害された結果と考えられ、これらの蛋白質がT細胞の分化に重要な役割を果たしていることが推測される。c-Mafも、これらと同様にT細胞の分化の初期から機能している可能性があるが、c-Maf過剰発現マウスの表現型からは、T細胞サブセットのバランスの決定に対する寄与が大きいことが示唆される。今後は、このトランスジェニックマウスを種々の自己免疫疾患マウスと交配し、自己免疫疾患におけるc-Mafの治療効果を判定する予定である。

さらに、c-Maf欠損マウスの解析から、c-Mafの多様な機能が明らかになってくると考えられる。現在のところ明らかなのは水晶体の形成不全であるが、今後T細胞サブセットの解析など、免疫系の解析を中心にすすめていく予定である。

以下の頁は著作権者の許諾を得ていない
ため、公表できません。(参考論又)

p. ~p.

p. ~p.

p. ~p.

p. ~p.

p. ~p.