

氏 名	あいのや けいこ 相野谷 慶子
学 位 の 種 類	博士（医学）
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻
学位論文題目	UG4 エンハンサーに誘導される GATA2 と BMP4 の発現は Gata2 低発現マウスの尿路異常を改善させる
論文審査委員	主査 教授 山本 雅之 教授 呉 繁夫 教授 仁尾 正記

論文内容要旨

【研究背景】転写因子 GATA2 は器官形成期にウォルフ管や総排泄腔周囲の間質に発現しており、泌尿生殖器の形成に重要な機能を有する。実際に *Gata2* 低発現変異マウス（以下 *Gata2*^{fl/fl} マウス）では、胎生期の異所性尿管芽に起因するヒトの先天性尿路疾患に類似した尿管の拡張が認められる。さらに *Gata2* 遺伝子の尿路特異的な遺伝子発現制御領域（エンハンサー）は、これまでに UG2 と UG4 の二つが同定されており、それぞれが尿路原基の異なる領域に遺伝子発現を誘導することが報告されている。

【目的】マウス *Gata2* 遺伝子の泌尿器特異的なエンハンサーにおいて、適切な尿路形成に最も重要な領域を解明し、GATA2 の空間的発現の重要性を証明する。

【方法】1、出生後の *Gata2*^{fl/fl} マウス尿管を詳細に解析した。2、*Gata2* 遺伝子の泌尿器特異的な UG2、UG4 エンハンサーを用いたトランスジェニックマウスの作成（Tg^{UG2-GATA2/LacZ} 以下 Tg^{UG2-G2}、Tg^{UG4-GATA2/LacZ} 以下 Tg^{UG4-G2}、Tg^{UG4-BMP4/LacZ} 以下 Tg^{UG4-BMP4}）と、*Gata2*^{fl/fl} マウスに対する遺伝子相補的レスキューを行った。レスキューの効果の判定には、出生後の尿管拡張の頻度と 11.0 日胚における尿管芽の発生位置を評価した。3、*Gata2*^{fl/fl} マウスの尿路原基における BMP4 の発現を、BMP4-BAC-LacZ レポーターマウスを用い（*Gata2*^{fl/fl}::Tg^{BMP4-BAC-LacZ}）、11.5 日胚の胎仔 X-gal 染色により評価した。

【結果】*Gata2*^{fl/fl} マウスでは、尿管芽の異所性発生に起因する異所性尿管開口（主に尿道への開口）が存在し、それに伴う二次性の尿管拡張が認められた。遺伝子相補的レスキューでは、UG4 に誘導される GATA2 トランスジーンが発現が、*Gata2*^{fl/fl} マウスにみられる尿管芽の発生位置を正常化させた。尿管拡張の頻度も *Gata2*^{fl/fl} マウス 44.4 %（56/126 尿管）に対し、*Gata2*^{fl/fl}::Tg^{UG4-G2} マウス 18.6 %（13/70 尿管、P<0.01）と改善が認められた。しかし UG2 に

よる GATA2 トランスジーン誘導では、*Gata2*^{flG2/EG2}::Tg^{UG2-G2} マウス 44.2% (38/86 尿管) と回復は認められなかった。

また *Gata2*^{flG2/EG2} マウス胎仔の尿路原基における BMP4-BAC-LacZ レポーター遺伝子の発現は抑制されていた。さらに UG4 に誘導される BMP4 トランスジーン誘導は、*Gata2*^{flG2/EG2} マウスの尿管拡張を軽度改善させた (*Gata2*^{flG2/EG2} マウス 46.2% (24/52 尿管)、*Gata2*^{flG2/EG2}::Tg^{UG4-BMP4} マウス 28.1% (18/64 尿管)、 $P < 0.05$)。

【考察・結論】 *Gata2* の尿路特異的な UG4 エンハンサーに誘導される、ウォルフ管周囲間質の GATA2 の発現は同部位の BMP4 の発現を活性化しており、適切な膀胱尿管接合部の形成に必須であることが明らかになった。さらに BMP4 は尿路原基において GATA2 に直接の制御を受けており、尿路の形成における GATA2 の主要な下流因子であることが証明された。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 UG4 エンハンサーに誘導される GATA2 と BMP4 の発現は *Gata2* 低発現マウスの尿路異常を改善させる

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 医化学分野

学籍番号 氏名 相野谷 慶子

先天性尿路奇形には異所性尿管開口という尿管が膀胱三角部以外に開口する病態が存在する。この疾患は尿管開口部における尿路の閉塞、形成異常腎の合併などにより、腎機能の面から重篤な状態を引き起こす。

本研究では、転写因子 GATA2 の低発現マウスにおいて、ヒトの先天性尿路奇形（異所性尿管開口）と類似した表現型が得られること、また、GATA2 の発現が正常な尿管膀胱接合部形成のために必須であること、がトランスジェニックマウスを用いた解析などにより示されている。これまでに、*Gata2* 遺伝子の泌尿生殖器特異的エンハンサーには UG2 と UG4 の 2 種類が存在することが報告されていたが、本研究では、*Gata2* 低発現マウスに認められる異所性尿管開口が、UG4 エンハンサーに発現誘導される GATA2 の遺伝子相補レスキューにより改善されることが示された。この結果より、尿路に遺伝子発現を誘導する UG4 エンハンサーが膀胱尿管部形成に不可欠であることが、生体において初めて明らかにされた。本研究は、組織特異的遺伝子発現制御の重要性を生体レベルで証明したものであり、個体の器官形成を考えるにあたり有意義である。

また、尿路において重要な制御因子として知られていた BMP4 について、UG4 エンハンサーを利用した BMP4 遺伝子相補レスキュー実験を行い、*Gata2* 低発現変異マウスに見られる異所性尿管開口が部分的に改善することを示した。この結果により、BMP4 は尿路形成において GATA2 の主要下流因子として実際に機能していることが初めて明らかとなった。さらに、GATA2 遺伝子の尿路特異的なエンハンサーの変異がヒトの先天性尿路疾患の原因となる可能性が考察されており、さらなる解析により新たな制御領域関連疾患の発見につながる可能性が論じられている。このように、マウス解析により得られた知見からヒト疾患の原因を分子レベルで解明する可能性が示されたことは、医学研究として高く評価すべき点であると考ええる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。