

氏名	小林 枝里
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	血球形成を制御する GATA1 転写因子の機能発現制御メカニズムの解析
論文審査委員	主査 教授 山本 雅之 教授 清水 律子 教授 菅原 明 教授 田中 耕三

論文内容要旨

GATA1 転写因子は、赤血球・巨核球形成における主要な制御因子である。過去の解析から、GATA1 の発現低下と機能ドメインの欠失は、いずれも白血病などの血液疾患につながるということが明らかにされてきた。

ヒトの白血病細胞で GATA1 翻訳領域の突然変異が探索された結果、ダウン症に随伴する巨核芽球性白血病と、その前白血病状態の血球細胞で、GATA1 の突然変異によって N 末端領域を欠損した GATA1 変異体が産生されていることが明らかになった。この N 末端欠失型 GATA1 では巨核球の増殖抑制能が低下していることが白血病発症の原因と考えられているが、N 末端欠失型 GATA1 が増殖を抑制できない分子機構は明らかでない。N 末端領域には細胞周期制御因子 Rb の結合する配列があることから、私は GATA1 が Rb との結合を介して細胞増殖を制御していると予想した。

マウスモデルによる解析からは、GATA1 の主要な第 1 エキソンである IE エキシソンの機能阻害も白血病につながることを示されている。その発症機構には、GATA1 の発現低下による赤血球分化の異常と、GATA1 発現がわずかに残存することによる細胞死の回避が必要であることが報告されている。しかし、この GATA1 発現低下マウスが胎生致死となることから、GATA1 のわずかな発現がどのようにして保たれるのかは明らかになっていなかった。

本研究では、GATA1 の機能発現を制御する分子機構を、IE エキシソンの重要性と N 末端欠失変異体 GATA1s の機能の両面から検証した。IE エキシソンを成獣で誘導的に欠失させた条件付き欠損マウスの解析により、IE エキシソンを欠失した赤芽球では、赤血球前駆細胞でまれに使用される第 1 エキシソンとして報告されていた IEb/c エキシソンと、新規に発見された第 2 イントロン内の第 1 エキシソン、IEd から転写が開始し、*Gata1* mRNA 発現が保たれることを見いだした。しかし、IE エキシソン以外の領域から発現したこれらの mRNA からは、完全長 GATA1 タンパク質が産生されず、N 末端欠失型 GATA1 がわずかに産生されたのみだった。この結果は、GATA1 発現制御における IE エキシソンの重要性を示すとともに、生体内で IE エキシソンが異常なクロマチン修飾などによって不活性化された場合、IEb/c や IEd エキシソンからの不完全な GATA1 発現を引き起こし、GATA1 のノックダウンと同様に白血病を誘起する可能性があることを示している。

さらに、GATA1s にみられる機能欠損の分子機構を解析するため、Rb との結合部位に点変異を導入した *Gata1* cDNA を初代培養巨核球に導入したところ、Rb 結合配列を失った GATA1 変異体はいずれも巨核球の増加を引き起こした。この結果から、GATA1 による巨核球増殖抑制には Rb との結合が必要であることが示唆された。この知見は、GATA1 が既知の標的遺伝子の発現制御だけでなく、Rb とのタンパク質間相互作用を介して細胞周期制御因子の活性を制御することで細胞の運命決定を担っている可能性を示している。

審査結果の要旨

博士論文題目血球形成を制御するGATA1 転写因子の機能発現制御メカニズムの解析.....

所属専攻・分野名医科学専攻.....・.....医化学分野.....

学籍番号.....氏名小林 枝里.....

GATA1 転写因子は、赤血球・巨核球形成における主要な制御因子である。これまでに、GATA1 の血球特異的第1エクソン（IE エクソン）の機能阻害はマウス個体に赤芽球性白血病を発症するが、GATA1 全欠失では白血病を発症しないこと、GATA1 のアミノ（N）末端領域の欠損が一部のサブタイプの人巨核芽球性白血病の原因であることが報告されていた。しかし、こうしたGATA1 機能不全による白血病の発症機序は明らかではなかった。

本研究では、IE エクソンの後天的欠失マウスの解析により、IE エクソンを欠失した赤血球前駆細胞では、赤血球系列でまれに使用される転写開始点として報告されていたIEb/cエクソンと、新規に発見したIEd エクソンを用いることにより、*Gata1* 遺伝子発現が正常アレルと同程度まで保たれること、しかし、IE エクソン以外の転写開始点を利用して産生された転写産物からは全長 GATA1 タンパク質は翻訳されず、N 末端領域を欠失したため転写活性化能の減弱した短いGATA1 が僅かに翻訳されることを見いだした。これらの結果は、IE エクソンの欠失により惹起されたGATA1 の機能低下が、赤芽球性白血病発症に関与していることを示唆している。

さらに、GATA1 欠失胎児肝臓の初代培養系を用いた遺伝子導入実験により、GATA1 のN 末端に存在するレチノブラストーマタンパク質（Rb）の結合配列に点変異を導入した変異型GATA1 では、N 末端領域欠失GATA1 と同様に、巨核球の増殖抑制能が減弱していることを見いだした。この結果は、GATA1 変異による巨核芽球性白血病の発症にGATA1/Rb 結合の消失に関与している可能性を示している。

本研究により、転写開始点の機能異常やタンパク質相互作用の欠失によって引き起こされたGATA1 転写因子の機能不均衡が、赤芽球系と巨核芽球系の2つの系列において白血病発症の根底にあることが明らかとなった。本研究成果は、多段階白血病発症機構の解明に大きな進展をもたらしたものであり、今後の白血病発症の予防法や治療法の開発に大きく貢献するものと考える。

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。