

京都大学	博士（医学）	氏名	若江 亨 祥
論文題目	E2A and CBP/p300 act in synergy to promote chromatin accessibility of the immunoglobulin κ locus (E2A と CBP/p300 は協調的に免疫グロブリン κ 鎖遺伝子座のクロマチンのアクセシビリティを促進する)		
(論文内容の要旨) 免疫グロブリン (Ig) 遺伝子、および T 細胞受容体遺伝子の V(D)J 遺伝子再構成は、共通の組換え酵素である RAG1/2 によって起こるが、それぞれ細胞系列や分化段階によって特異的に制御されている。これらの制御は、組換えに先行して標的遺伝子の germline 転写が起こることから、RAG1/2 の標的遺伝子へのアクセシビリティによるものと考えられている。またアクセシビリティの機能的実体は、ヒストンのアセチル化であることが報告されている。 これまでの先行研究から、HEK293T 細胞由来の BOSC23 細胞において、basic helix-loop-helix 蛋白 E2A を RAG1/2 と共に強制発現させると、Ig κ 遺伝子のアクセシビリティが増加し、遺伝子再構成が起こることが報告されていた。このことから、E2A 転写因子が Ig κ 遺伝子のアクセシビリティを正に制御していることが示唆されていたが、具体的な分子メカニズムについては不明であった。 今回我々は、BOSC23 細胞において強制発現させた E2A が、V κ 遺伝子のプロモーターや組換えシグナル配列の下流領域に直接結合し、ヒストンアセチル化酵素 (HAT) である CBP/p300 をリクルートすることを見出した。そこで CBP/p300 を E2A と共に強制発現させた結果、V κ 遺伝子のヒストンアセチル化と germline 転写が上昇し、遺伝子再構成の上昇を認めた。逆に、内因性 CBP/p300 を siRNA によりロックダウンすると、V κ 遺伝子のヒストンアセチル化と germline 転写が低下し、遺伝子再構成の低下を認めた。 さらにマウス preB 細胞株 BKO84 を用いて検討を行なった結果、E2A はいくつかの V κ 遺伝子に結合し、p300 をリクルートすることで V κ 遺伝子のヒストンアセチル化と germline 転写を上昇させ、遺伝子再構成を正に制御していることが明らかとなった。また V κ 遺伝子の中でも、E-box と呼ばれる E2A 結合モチーフを持ち、アクセシビリティが E2A に大きく影響を受けるものと、逆に負に制御されているものがあることも示唆された。このことから、E2A が個々の V κ 遺伝子のアクセシビリティを制御し、結果として V κ 遺伝子のレパートワールの選択に関与している可能性も示唆された。 以上の結果から、E2A は Ig κ 遺伝子座において、特定の V κ 遺伝子に直接結合し、CBP/p300 といった HAT をリクルートすることで、ヒストンアセチル化に依存してアクセシビリティを増加させ、遺伝子再構成を正に制御していることが示された。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文では、免疫グロブリン κ (Ig κ) 鎖遺伝子再構成の制御機構に関して、遺伝子導入効率の高い BOSC23 細胞に、E2A 転写因子を組換え酵素 RAG1/2 と共に強制発現させ、Ig κ 遺伝子再構成を誘導する系を用いて解析を行なった。その結果、E2A が V κ 遺伝子に結合し、転写の活性化と相関するヒストンアセチル化を上昇させることが示された。その際、E2A と相互作用するヒストンアセチル化酵素である CBP/p300 が、E2A によって特異的に V κ 遺伝子に動員されたことから、それらを E2A と共に過剰発現させたところ、ヒストンアセチル化が上昇し、germline 転写と組換えが増加した。逆に siRNA によって内在性の CBP/p300 を低下させると、ヒストンアセチル化が低下し、germline 転写と組換えも低下した。これらの結果から、E2A は CBP/p300 を組換え部位に動員し、ヒストンアセチル化の上昇を介してクロマチンのアクセシビリティを促進することにより、組換えを誘導することが示された。さらに、マウスの preB 細胞株においても、E2A がいくつかの V κ 遺伝子に結合し、ヒストンアセチル化を上昇させ、組換えを誘導することから、上記の現象がより生理的な状況で起こることを示した。

以上の研究は、E2A と CBP/p300 による Ig κ 鎖遺伝子再構成の制御機構の解明に貢献し、免疫学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 6 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降