

氏名	森 誠 一
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2248号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	The leukemic oncogene <i>tal-2</i> is expressed in the developing mouse brain (発生過程のマウス脳における白血病癌遺伝子 <i>tal-2</i> の発現に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 影山龍一郎 教授 笹井芳樹 教授 西川伸一

論文内容の要旨

tal-1 (*T-cell acute leukemia-1*; 別名 SCL) と *tal-2* はヒト T 細胞性白血病における染色体転座部位から単離された塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 型転写因子である。TAL1, TAL2 は, LYL1, NSCL1, NSCL2 とアミノ酸レベルにおいて高い相同性を示し, bHLH 型転写因子群の中で一つのサブファミリーを形成している。このうち *tal-2* は血球系や血管内皮細胞に発現し, 特に血球の発生に必須であることが遺伝子欠損マウスの解析により示されている。またこれらの遺伝子が血球系や神経系で発現することが報告されているが, *tal-2* の正常組織での機能と発現部位はこれまで不明であった。

我々はマウス初期胚に発現する bHLH 因子を探索する過程において, マウス 7.5 日胚 cDNA ライブラリーよりマウス *tal-2* cDNA をクローニングし, その構造決定と発現分布の解析を行った。

単離した 2 種類の cDNA (1307 bp の *tal-2α* および 1139 bp の *tal-2β*) はその 5' 側の非翻訳領域の塩基配列が異なっていたが, 翻訳領域は共通であった。それから推測される TAL2 蛋白質は, 108 個のアミノ酸からなり, bHLH 領域において他の TAL/SCL ファミリーと高い相同性を示したが, bHLH 領域よりも N 末側がきわめて短いという特徴を認めた。

ノザンプロット解析において *tal-2* の発現は成体と胎仔体部ではほとんど検出できなかったが, マウス胚頭部では胎生 10 日目から 14 日目にかけて認められ, そのピークは胎生 12 日目であった。

次に *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて, 中枢神経系における *tal-2* の発現分布を *tal-1* と比較しながら検討した。胎生 10 日目の前視蓋および視蓋, 被蓋に *tal-2* の発現を認めたが, *tal-1* の発現は中枢神経系ではほとんど認めなかった。胎生 12 日目には *tal-1* と *tal-2* の mRNA は, 間脳, 中脳, 後脳において一部では重複しているものの固有の発現パターンを示した。両遺伝子とも間脳では前視蓋と zona limitans intrathalamica (ZLI) に, 中脳では視蓋と被蓋に発現していたが, *tal-1* よりも *tal-2* の発現量が高かった。神経芽細胞は脳室帯で分裂し, 中間帯から辺縁帯に移行しながら最終分化を行うことが知られているが, *tal-2* は視蓋の脳室帯から中間帯で, *tal-1* は辺縁帯において発現が認められた。また被蓋では前部で同等に発現していたが, 後部では *tal-1* の発現量のほうが高かった。後脳では *tal-1* と *tal-2* の転写産物は峽および前橋に発現し, 後橋よりも尾側では *tal-1* のみ発現していた。胎生 14 日目では *tal-1* は検出されず, *tal-2* の発現も減弱しながら前視蓋, 視蓋, ZLI に限局して認められた。また視蓋と被蓋の極めて限局した領域に *tal-2* の強いシグナルが新たに出現した。

神経細胞の分化は種々の転写因子の制御下に段階的に起こる複雑な過程である。この過程で bHLH 因子は重要な役割を果たしている。*tal-1* 相同遺伝子は哺乳動物以外でも神経系に発現していること, および TAL/SCL ファミリーに属する遺伝子はマウスにおいても発生過程の神経組織で発現することから, *tal-1* と *tal-2* が神経発生において重要な役割を担っていることが示唆される。赤血球系の細胞において TAL は zinc finger 型転写因子の GATA と複合体を形成し, この複合体は TAL と GATA のそれぞれが認識する DNA 配列に結合して協調的に転写活性を誘導することが示されている。いずれの

因子の欠損マウスでも血球形成が障害されることは TAL/GATA 複合体が血球形成に必須であることを示唆している。興味深いことに *tal-1* と *tal-2* の神経系での発現部位は GATA 3 と重複している。これは TAL/GATA 複合体が血球形成に必須であるだけでなく、特定の部位の神経細胞の分化にも関わっている可能性を示唆する。

論文審査の結果の要旨

申請者はマウス 7.5 日胚 cDNA ライブラリーより *tal-2* cDNA をクローニングし、その構造決定と発現分布の解析を行った。推測される TAL 2 蛋白質は、bHLH 領域で他の TAL ファミリーと高い相同性を示した。

ノザンプロット解析で *tal-2* の発現は胎生 10 から 14 日目の胚頭部に認められ、ピークは胎生 12 日目であった。*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて、中枢神経系における *tal-2* の発現分布を検討したところ、胎生 10 日目の前視蓋、視蓋、被蓋に、12 日目の前視蓋、zona limitans intrathalamica、視蓋、被蓋、峡および前橋に認められ、14 日目ではその発現は減弱した。*tal-1* と *tal-2* は、一部では重複しているものの固有の発現パターンを示していた。

神経分化において bHLH 因子は重要な役割を果たしている。*tal-1* 相同遺伝子は哺乳動物以外でも神経系に発現し、TAL ファミリーの遺伝子は発生過程の神経で発現することから、*tal-2* が神経発生において重要な役割を担っていることが示唆される。赤血球分化において TAL は zinc finger 型転写因子の GATA と複合体を形成し、協調的に転写活性を誘導することが示されている。*tal-2* の神経系での発現部位は GATA 3 と重複しており、TAL/GATA 複合体が血球形成に必須であるだけでなく、特定の部位の神経細胞の分化に関与する可能性を示唆する。

以上の研究は白血病癌遺伝子 *tal-2* の正常組織での発現部位を明らかにし、神経発生の分子機構の解明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 12 年 2 月 14 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。