

京都大学	博士（ 医科学 ）	氏 名	中 村 友 紀
論文題目	Essential roles of ECAT15-2/Dppa2 in functional lung development (初期胚に高発現する遺伝子 ECAT15-2/Dppa2 の肺発生における役割)		
(論文内容の要旨)			
転写因子や DNA 結合タンパク質は、発現する組織や器官の発生において重要な役割を担うことが知られている。未分化 ES 細胞や初期胚が持つ多能性においても、これらに高発現する転写因子が重要な役割を担っていると考えた。ECAT15-1 /Dppa4 (ES cell associated transcript15-1/development pluripotency associated4)と ECAT15-2/Dppa2 は未分化 ES 細胞や初期胚に高発現する ECAT 遺伝子として同定された。これらの遺伝子は同一染色体上約 17kbp 離れて位置し、発現されるタンパク質は互いに相同性を有しており、共に DNA 結合ドメインである SAP モチーフを持つ。これら二つの遺伝子の生体内における役割を明らかにするために、ECAT15-1 と ECAT15-2 遺伝子座にそれぞれ loxP/FRT 配列を持つ BAC (Bacterial Artificial Chromosome)を用いて単独・同時どちらにも欠損できる ECAT15 ダブルコンディショナルターゲティングマウスを作製し、このマウスと Cre/FLPe リコンビナーゼ発現マウスを交配することで、ECAT15-1 単独欠損、ECAT15-2 単独欠損、ECAT15-1/15-2 同時機能欠損の 3 系統のマウスを作製した。 ECAT15-1 と ECAT15-2 はどちらも初期胚で高発現することから着床前後で機能欠損胚が表現型を示すと予想したが、驚くべきことに 3 系統全ての機能欠損マウスが肺の間質が厚く肺胞形成に異常を示し、出生前後に高率に致死であることが分かった。さらに興味深いことに、3 系統のマウスの中で ECAT15-2 単独機能欠損マウスが最も重篤な表現型を示した。表現型が肺でみられたことから、肺における ECAT15-1 と ECAT15-2 の発現を様々な方法で調べたが、いずれにおいても発現は検出されなかった。肺異常における分子基盤を調べるため、最も重篤な表現型を示す ECAT15-2 機能欠損肺の網羅的遺伝子発現をマイクロアレイを用いて調べたところ、約 100 遺伝子が発現異常を示しており、これらの中には間質発生に関連した遺伝子が多数見受けられた。このように、肺における ECAT15-1 と ECAT15-2 の発現が確認できないにも関わらず、3 系統の機能欠損マウスは肺で表現型を示すことが明らかになった。 上述のように ECAT15-1 と ECAT15-2 は SAP モチーフをもち、SAP モチーフを有するタンパク質はエピジェネティクスに関与する因子が報告されていること、また二遺伝子は初期胚で高発現することから、ECAT15-1 と ECAT15-2 は発生初期において何らかのエピジェネティック状態を制御し、発現のない肺の発生に影響を及ぼすと考えた。そこで ECAT15-2 機能欠損 ES 細胞を樹立し解析したところ、ECAT15-1 と ECAT15-2 は ES 細胞内で複合体を形成し、ECAT15-2 機能欠損マウス肺で異常発現を示した遺伝子領域で、直接または間接的に活性化型エピジェネティック修飾を維持することが明らかになった。 以上のように、本研究では ECAT15-1 と ECAT15-2 の解析を通じて、初期胚におけるエピジェネティック状態が時間、空間的に離れた組織における発生に影響しうることを示した。			

(論文審査の結果の要旨) ECAT15-1/Dppa4(ES cells associated transcript 15-1/Developmental pluri- potency associated 4)と ECAT15-2/Dppa2 は初期胚や生殖細胞で発現する遺伝子で、相同性をもち同じ DNA 結合ドメインである SAP モチーフを有するタンパク質を発現する。本研究では、生体内におけるこれら二つの遺伝子の役割と関係を調べるため、ECAT15-1 単独、ECAT15-2 単独、ECAT15-1/15-2 同時機能欠損マウスを作製し、機能解析を行ったところ、それぞれの機能欠損マウスは肺組織異常による呼吸不全により、ほとんどのマウスが出生前後で死亡した。肺における ECAT15-1, ECAT15- 2 の発現は確認されていなかったことから、肺発生における発現を様々な方法で確認したが検出されなかった。発現しない臓器において、なぜ機能欠損マウスの表現型が見られるのかを調べたところ、初期胚において ECAT15-1 と ECAT15-2 が形成するタンパク質複合体が、直接または間接的にクロマチン修飾を制御し、その影響が肺における遺伝子発現に影響を与える可能性が示された。 以上の研究は、未分化細胞で発現している ECAT15-1 と ECAT 15-2 の遺伝子がエピジェネティクス制御を介して、肺形成に関与することを示した。したがって、本論文は博士(医科学)の学位論文として価値あるものとみとめる。なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 10 月 27 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： 年 月 日 以降			