

氏 名	金 優 榮
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2134 号
学位授与の日付	平成 11 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	Mutual activation of Ets-1 and AML1 DNA binding by direct interaction of their autoinhibitory domains (Ets-1とAML1のDNA結合抑制ドメイン同士の相互作用により両タンパク質の DNA 結合能の活性化に関する研究) (主査) 論文調査委員 教授 内 山 卓 教授 吉田彌太郎 教授 伊 藤 嘉 明

論 文 内 容 の 要 旨

転写因子Ets-1は、ニワトリに白血病をおこすウイルスE26の持つ融合がん遺伝子myb-etsの一部として同定されて以来、がん遺伝子の産物として、あるいは血球分化に関与する転写因子として長い間広く研究されている。一方AML1はt(8:21)染色体転座の切断点で発見され、急性骨髄性白血病中12%の症例で原因になっていると考えられている。AML1は造血幹細胞の形成に必須であり、その後の血球分化においても重要な機能を持つことが知られている。この二種の転写因子はいずれもT細胞で発現しており多くのT細胞特異的遺伝子のエンハンサー／プロモーター領域に結合配列が互いに隣接して存在することが報告されている。しかし、いずれの因子もそれ自身ではDNAに結合しにくい構造を持っている。Ets-1の場合はDNA結合部位であるETSドメインがアミノ末端側のExon 7領域とカルボキシ末端にある部分によってマスクされ、DNAへの結合が阻害されている。一方AML1はβサブユニットと二量体を形成しなければ、殆どDNAへは結合しないし、この二量体形成は特別な機構で制御されている。AMLのDNA結合領域であるラントドメインも、カルボキシ末端側に存在するNRDB (Negative regulatory region for DNA binding) 領域によってマスクされ、DNAへの結合が阻害されていることが申請者の所属する研究室から最近発表された。しかし、T細胞受容体ベータ (TCR β) のプロモーターの場合、AML1とEts-1は互いに結合し相乗的にDNAへの結合と転写活性化を行う。申請者等は本来殆どDNAへ結合しなかったこのAML1とEts-1がTCR βのエンハンサーコア領域へ相乗的に結合する分子機構を解明する目的で研究を行った。

申請者等はβサブユニットなしでもEts-1とAML1が、TCR βエンハンサーコアに数十倍強力で相乗的に結合することを発見した。二つの因子間の結合領域を詳細に解析した結果、AML1に2ヶ所、Ets-1に3ヶ所の相互作用するドメインを同定し、それぞれEI、EII及びPI、PII、PIIIと名付けた。興味深いことに、DNAへ結合を分子内で負に制御しているEts-1のExon 7領域がPIIに、AML1のNRDBがEIIに相当し、このPIIとEIIが相互作用すること、また、DNA結合部位であるETSドメインがPIに、ラントドメイン近接部位がEIに相当し同様にPI、EIが直接結合していることが明らかになった。この二つの因子の様々な変異体、あるいはアイソフォームを利用して解析した結果、Exon7領域とNRDBの結合がDNAへの相乗的結合に必須であることが明らかになった。そして、これらの抑制ドメイン同士の直接の相互作用による二つの因子の相乗的DNA結合が細胞内で実際起っていること、そしてそれが相乗的転写活性化にも必須であることも明らかになった。更にEts-1との相互作用でAML1のDNA結合能が活性化されるとβサブユニットとの結合が可能になることも示すことができた。この結果Ets-1、AML1及びβサブユニットはDNA上で安定な複合体を作るものと考えられる。これらの結果は複数の転写因子による組織特異的遺伝子発現に関する新しい機構を示したものと考えられる。Ets-1のExon7とAML1のNRDBは進化的に非常に保存されており、またそれぞれの部位が欠失したアイソフォームがEts-1、AML1ともに存在している。この事実もこの二つの転写因子のドラマティックな相乗的DNA結合機構に生物学的な意義のあることを強く示唆している。

論文審査の結果の要旨

がん原遺伝子産物Ets-1とAML1はいずれもT細胞で発現しており多くのT細胞特異的遺伝子のエンハンサー領域に結合配列が隣接して存在する。Ets-1のDNA結合部位はアミノ末端側のExon7領域によってマスクされ、一方AML1のDNA結合領域も、カルボキシ末端側に存在するNRDB (Negative regulatory region for DNA binding) 領域によってマスクされ、DNAへの結合が阻害されている。しかし申請者等はEts-1とAML1が、T細胞受容体 β のエンハンサーに数十倍強力に相乗的に結合することを発見した。この分子機構を解析し、Exon7領域とNRDBの結合がDNAへの相乗的結合に必須であることを明らかにした。そして、これらの抑制ドメイン同士の直接の相互作用は相乗的転写活性化にも必須であることも明らかにした。これらの結果は複数の転写因子による組織特異的遺伝子発現に関する新しい機構を示したものと考えられる。

以上の研究は転写制御機構の一端を明らかにし、免疫、発がん機構等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11年3月3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。