

氏 名	おのの ゆういち 尾 野 雄 一
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	論 理 博 第 1382 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
学位論文題目	急性 T 細胞性白血病における TAL 1 と LMO ファミリーの強調的転写活性化機構の解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 竹 市 雅 俊	教 授 井 口 八 郎	教 授 岡 穆 宏
--------	----------------------	-------------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

急性 T 細胞性白血病 (T-ALL) は, T 細胞受容体遺伝子の組換えのエラーによる染色体転座の結果, 転座部位周辺の遺伝子の発現が異所的に活性化されることが原因であると考えられている。転座部位からいくつかの原因遺伝子は同定されているが, これらの遺伝子の異所的発現による癌化のメカニズムはまったく明らかにされていない。本論文は, T-ALL の主要な原因遺伝子である TAL 1 による T-ALL 発症メカニズム解明を最終目的として, TAL 1 の下流ターゲット遺伝子を同定し, その転写活性化機構について解析したものである。

TAL 1 を T 細胞で発現させたトランスジェニックマウスでは T 細胞癌の発症は見られないことから, TAL 1 が癌遺伝子として機能するにはコファクターが必要であることが示唆されていた。申請者は, その候補として, T-ALL 原因遺伝子 LMO 1 および LMO 2 を挙げ, T-ALL 由来細胞株における TAL 1 と LMO ファミリーの発現を調べた結果, LMO 1 あるいは LMO 2 が必ず TAL 1 と同時に発現していることを見出した。そして, TAL 1 と LMO 1 を同時に T 細胞株に発現させることにより, T-ALL 腫瘍マーカー遺伝子 TALLA-1 の発現が誘導されることを示した。これらの結果から, TAL 1 と LMO 1 が協調して下流ターゲット遺伝子の転写を活性化することを明らかにし, LMO ファミリーが TAL 1 の癌化におけるコファクターとして機能している可能性を示唆した。

これまで TAL 1 の下流ターゲット遺伝子は同定されておらず, そのために TAL 1 の転写活性や癌化のメカニズムは明らかにされていない。そこで, 次に TAL 1 の下流ターゲット遺伝子を同定するために, TAL 1 と LMO 1 を発現させた T 細胞株とよとの T 細胞株の間でサブトラクションを行った。その結果, YKL 39 および RALDH 2 の cDNA 断片が得られた。そして, T 細胞株に TAL 1 と LMO 1 あるいは LMO 2 を同時に発現させることにより RALDH 2 の発現が誘導されること, 実際に T-ALL 由来の細胞株のうち TAL 1 を発現している細胞株の多くで RALDH 2 が発現していることから, RALDH 2 が TAL 1 の下流ターゲット遺伝子であることを明らかにした。

次に TAL 1 と LMO による RALDH 2 の転写活性化機構を明らかにするために RALDH 2 のプロモーター解析を行っている。その結果, プロモーター上の GATA 配列が TAL 1 と LMO による転写活性化に必須であることが明らかになった。この GATA 配列には GATA 3 が結合すること, TAL 1 と LMO, LMO と GATA 3 が相互作用することにより TAL 1-LMO-GATA 3 複合体が形成されることから, この複合体が RALDH 2 の転写を活性化することを明らかにした。さらに, この複合体による転写活性化メカニズムを解明するために, TAL 1 と GAT 3 の DNA 結合能を持たない変異体を作製し, その活性を調べた結果, RALDH 2 プロモーターの活性化には GATA 3 の DNA 結合能は必須だが, TAL 1 の DNA 結合能は必要ないことが明らかになった。これらの結果から, TAL 1 と LMO は GATA 3 のコファクターとして働くことで転写活性化因子として機能することを明らかにした。これまで, TAL 1 の転写活性は非常に弱く, E 2 A 遺伝子産物 E 47 とヘテロダイマーを形成することで E 2 A の機能を阻害することが T 細胞癌化の原因であると考えられてきたが, 本論文の結果から, TAL 1 は LMO および GATA 3 と協調して転写活性化因子として機能するということが明らかとなり, T 細胞で異所的に発現した TAL 1 と LMO により下流ターゲット遺伝子の発現が誘導されることが癌化の原因になっていると論じている。

論文審査の結果の要旨

急性 T 細胞性白血病 (T-ALL) では多くの場合 T-ALL に特異的な染色体転座が見られ、その転座部位周辺から 10 種類ほどの原因遺伝子が同定されている。その多くは転写因子をコードしているが、その分子レベルでの機能についてはほとんど明らかにされておらず、そのために癌化のメカニズムもまったく分かっていない。本論文では T-ALL の主要な原因遺伝子である TAL1 を取り上げて、T-ALL 発症メカニズムの解明を最終目的に、TAL1 の下流遺伝子を同定し、その転写活性化機構について論じた。

まず、TAL1 を発現している T-ALL 由来細胞株では必ず LMO1 あるいは LMO2 が同時に発現していることを見出している。さらに TAL1 と LMO を T 細胞株に同時に発現させることにより、T-ALL マーカー遺伝子 TALLA-1 の発現が誘導されることを明らかにしている。このことから TAL1 の T 細胞癌化におけるコファクターとして LMO ファミリーが機能していることが強く示唆された。このように 2 つの T-ALL 原因遺伝子間の関連が明らかにされたことは、T-ALL 発症メカニズムを解明する上で重要な意義を持つものとして評価できる。

次に申請者は、TALLA-1 以外の TAL1 と LMO の下流ターゲット遺伝子を同定するために、T 細胞株に TAL1 および LMO1 を同時に発現させて、発現誘導される遺伝子をサブトラクション法により単離している。その結果、YKL39 および RALDH2 の単離に成功している。このうち RALDH2 に関しては、TAL1 と LMO1 および TAL1 と LMO2 の発現により誘導されること、実際に TAL1 と LMO を発現している T-ALL 由来細胞株の多くで発現していることを示し、RALDH2 が T-ALL における TAL1 と LMO 下流ターゲット遺伝子であることを明らかにしている。このことは、これまでほとんど未知であった T-ALL 発症における TAL1 および LMO の分子レベルでの機能メカニズムの理解に繋がるものと期待される。また、申請者の用いた研究手法は、TAL1 以外の転写因子の下流ターゲット遺伝子の同定にも有効であると考えられ、その観点からも本研究の意義は大きい。

次に TAL1 と LMO による RALDH2 の転写活性化機構を明らかにするためにプロモーター解析を行っている。その結果、プロモーター上の GATA 配列が必須であり、この GATA 配列には GATA3 が結合すること、TAL1 と LMO、LMO と GATA3 が相互作用することにより TAL1-LMO-GATA3 複合体が形成されることを示し、この複合体により RALDH2 の転写が活性化されることを明らかにした。さらに、この複合体による転写活性化メカニズムを解明するために、TAL1 と GATA3 の DNA 結合能を持たない変異体を作製し、その活性を調べた結果、RALDH2 プロモーターの活性化には GATA3 の DNA 結合能は必須だが、TAL1 の DNA 結合能は必要ないことを明らかにしている。こうした一連の研究により、TAL1 と LMO は GATA3 のコファクターとして働くことで転写活性化因子として機能することが明らかにされた。

これまで、TAL1 の転写活性は非常に弱く、E2A 遺伝子産物 E47 とヘテロダイマーを形成することで E2A の転写活性を阻害することが T 細胞癌化の原因であると考えられてきた。しかし本論文により、TAL1 は LMO および GATA3 と協調して転写活性化因子として機能するということが明らかとなり、T 細胞で異所的に発現した TAL1 と LMO により下流遺伝子の発現が誘導されることが癌化の原因になっていることが強く示唆された。このことは、T-ALL 発症メカニズムの解明に大きく寄与するものと考えられる。

よって、申請論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認められる。なお、主論文および参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。