

氏 名	寺 野 朝
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2881 号
学位授与の日付	平 成 17 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 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Transcriptional Control of Fetal Liver Hematopoiesis : Dominant Negative Effect of the Overexpression of the LIM Domain Mutants of LMO2 (転写因子による胎生肝造血の制御 : LMO2 mutant の過剰発現による dominant negative 効果について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 内 山 卓 教 授 前 川 平

論 文 内 容 の 要 旨

LMO2 転写因子は TAL1 や LDB1, GATA1/2/3 などの臓器特異性転写因子である造血制御蛋白質と複合体を形成して赤血球の分化に関与するとされている。LMO2 は T 細胞性急性白血病患者の染色体転座部位からクローニングされた遺伝子で、現在までの研究で一次（胎児型）造血・二次（成人型）造血・血管新生に関与することが明らかにされている。LMO2 は LIM1 domain と LIM2 domain という二つのドメインを持つ 477 塩基からなる蛋白質である。我々は 2 つの domain の赤血球分化への影響を明らかにするために、各 domain を壊した mutant を作成した。そしてそれらの mutant を過剰発現させて赤血球分化に必要なと考えられている LMO2 複合体を形成出来ないようにし (dominant negative 効果), in vitro, in vivo における造血への影響を調べた。まず、LIM1 domain, LIM2 domain 各々の domain を壊した mutant と TAL1 や LDB1, GATA1/2/3 などの複合体構成蛋白質との蛋白質間結合を見るために免疫沈降法を行った。その結果、LIM2 mutant では、LDB1 及び TAL1 と蛋白質間結合は残っているが、GATA1/2/3 とは結合がなくなる事が明らかになった。この LIM2 mutant を過剰発現させたマウスでは、胎児致死となり、胎生肝造血の障害、胸腺形成不全が認められた。MEL cell を DMSO 環境下で赤血球に誘導する実験系を用いて、これらの mutant を過剰発現させたところ、赤血球への分化が抑制された。これらの結果は、過剰発現した LIM2 mutant が正常の LMO2 蛋白と GATA 蛋白との蛋白質間結合を妨害することにより生理的な複合体形成を妨げる為に造血が障害されるのではないかと示唆した。

LIM1 mutant では免疫沈降法により TAL1, LDB1, GATA1/2/3 との蛋白質間結合は正常の LMO2 との結合力よりは弱くなるが十分維持されていることが明らかになった。LIM1 mutant 過剰発現マウスでは胎児肝造血は障害されず、又、MEL cell を用いた赤血球分化誘導実験でも正常であった。これは、LIM1 mutant を過剰発現させても、生理的な複合体形成を妨害するような機能がないことを示すものと考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

LMO2 は T 細胞性急性白血病の染色体転座部位から cloning された遺伝子で、一次造血・二次造血・血管新生に関与する転写因子である。血球分化に於いては、LMO2 は TAL1 や LDB1, GATA1/2/3 などの造血制御蛋白質と複合体を形成して関与するとされている。LMO2 蛋白は LIM1 と LIM2 domain の二つの蛋白結合ドメインを持つ。この 2 つの domain の赤血球分化への役割を明らかにするために、各 domain を改変した mutant を作成した。そしてそれらの mutant を過剰発現させて、in vitro, in vivo における造血への影響をみた。まず、各々の domain を壊した mutant と TAL1 や LDB1, GATA1/2/3 などの蛋白質間結合を免疫沈降法で調べた。その結果、LMO2 mutant では、LDB1 及び TAL1 と蛋白質間結合は残っているが、GATA1/2/3 とは結合はなくなった。この LIM2 mutant を過剰発現させたマウスでは半数が胎児致死となり、胎生肝造血の障害、胸腺形成不全が認められた。更に MEL cell を赤血球に誘導する実験系を用いて、これらの

mutant を過剰発現させたところ、赤血球への分化が抑制された。これらの結果は、過剰発現した LIM2 mutant が正常の LMO2 と GATA との蛋白質間結合を妨害して生理的な複合体形成を妨げ、造血を障害するものと解釈された。

以上の研究は LMO2 転写因子複合体形成機序の解明に貢献し、胎生肝造血の転写因子による調節機構の理解に寄与するところが多い。従って、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 17 年 3 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。