

氏 名	はざ ま まさ あき 挟 間 雅 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2496 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Different regulatory sequences are required for parvalbumin gene expression in skeletal muscles and neuronal cells of transgenic mice (パルブアルブミン遺伝子のトランスジェニックマウスにおける骨格筋と神経細胞での発現には異なった調節配列が必要である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 川 口 三 郎 教 授 金 子 武 嗣 教 授 中 西 重 忠

論 文 内 容 の 要 旨

中枢神経系において多様なニューロンを理解するためには、特定の種類の神経細胞を標識するマーカー分子が必須である。そのようなマーカー分子の中でも、カルシウム結合タンパク質の一つであるパルブアルブミンは、特定の GABA 作動性ニューロンに発現していることがよく知られている。我々は、トランスジェニックマウスを用いて、パルブアルブミン遺伝子の組織・細胞特異的な発現調節機構を明らかにするために本研究を行った。

パルブアルブミンは、骨格筋ではⅡ型筋線維に、中枢神経系では特定の GABA 作動性ニューロンに発現している。パルブアルブミン陽性細胞にヒトインターロイキン 2 型受容体 α サブユニットとオワンクラゲ緑色蛍光タンパク質の融合遺伝子 (hIL-2R/GFP) を発現させるため、パルブアルブミン遺伝子のプロモーター・エンハンサー領域を用いた二種類のトランスジーンを作製した。一方は、パルブアルブミン遺伝子上流領域16.5キロベースの直下に hIL-2R/GFP をつないで作製した。もう一方は、バクテリア人工染色体 (BAC) を用いて、パルブアルブミン遺伝子を含むゲノム領域180キロベースまたは155キロベースのうち、パルブアルブミン遺伝子翻訳開始領域に hIL-2R/GFP を挿入して作製した。

これらのトランスジーンを用いてトランスジェニックマウスを作製し、hIL-2R/GFP の発現を Northern hybridization 法, *in situ* hybridization 法, および免疫組織化学法により解析した結果、次のような結果が得られた。

- 1) 3つのトランスジーンから得られたすべてのラインで、骨格筋において hIL-2R/GFP が発現しており、その発現分布はパルブアルブミンと同様のパターンを示した。
- 2) 脳における有意な発現は、180キロベースのゲノム領域を含むトランスジーンから作製されたトランスジェニックマウス 2 ライン (PA2ラインおよび PA9ライン) のみで認められた。
- 3) PA2 ラインでは、hIL-2R/GFP の発現は視床網様核、淡蒼球、大脳皮質においてパルブアルブミン陽性ニューロンに限局していたが、小脳ではパルブアルブミン陽性ニューロンに加えて一部の星状膠状細胞にも異所性の発現が見られた。
- 4) PA9 ラインの小脳では、hIL-2R/GFP の発現はパルブアルブミン陽性ニューロンであるプルキンエ細胞・バスケット細胞・星状細胞に限局し、これらの細胞のうち一部の細胞において強い発現が見られた。

以上の結果から、パルブアルブミン遺伝子上流領域16.5キロベースは骨格筋における筋線維選択的な遺伝子発現に十分であるが、脳のパルブアルブミン陽性ニューロンでの遺伝子発現には、我々が用いた180キロベースのゲノム領域に含まれる発現調節領域がさらに必要であることが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は遺伝子工学的・発生工学的手法を用いて、パルブアルブミン遺伝子の組織・細胞特異的な発現調節機構を解析したものである。申請者はトランスジェニックマウスの手法を用い、パルブアルブミン遺伝子のプロモーター・エンハンサー領域を解析するために3種類の異なったトランスジーンを作製した。1つはパルブアルブミン遺伝子上流領域16.5キロベ

ースにヒトインターロイキン2型受容体 α サブユニットとオワンクラゲ緑色蛍光タンパク質の融合遺伝子(hIL-2R/GFP)をつないだもので、他の2つはパルプアルブミン遺伝子を含むゲノム領域180キロベースないし155キロベースを含むバクテリア人工染色体(BAC)にhIL-2R/GFPを挿入したものである。トランスジェニックマウスにおける発現分布の解析の結果、骨格筋ではすべてのラインでパルプアルブミンと同様の発現パターンを示した。これに対し、脳における有意な発現は、180キロベースのゲノム領域を用いたトランスジェニックマウスのみで認められた。更にマウスの脳におけるhIL-2R/GFPの発現は、一部例外はあるものの、多くの領域においてパルプアルブミン陽性ニューロンに一致することを示した。

以上の研究は、筋肉と脳のパルプアルブミン遺伝子の発現調節が異なることを示すとともに、BACを用いたトランスジェニックマウスの有用性を示したものであり、遺伝子の発現調節機構の理解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14年2月25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。