

Title	H0XC8, H0XC9によるHoxA7遺伝子発現の制御 : Hox欠損マウスを用いた解析
Author(s)	早坂, 直人
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/39833
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	はやまきなおと 早坂直人
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12371号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	HOXC8, HOXC9による <i>HoxA7</i> 遺伝子発現の制御： <i>Hox</i> 欠損マウスを用いた解析
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人 (副査) 教授 羽倉 明 教授 浜田 博司

論文内容の要旨

[目的]

形態形成過程において、体軸に沿った位置情報の決定に関与するマスター遺伝子として、*Hox* 遺伝子群が注目されている。これらの遺伝子はホメオドメインを有する転写因子である。しかし、HOX タンパク質が直接に転写を制御する遺伝子(制御標的遺伝子)は知られておらず、HOX がどのような転写制御を行って遺伝子として機能するのかを解析することは困難であった。我々は先に、*in vivo* のクロマチン中でHOXC8が*HoxA7*の上流域に直接結合していることを見出していた。このことから、*HoxA7*はC8の制御標的候補遺伝子と考えられた。本研究の目的の第一は、単離した制御標的候補遺伝子*HoxA7*が*in vivo*でC8によりどのような転写調節を受けているかを解析することであり、第二は、更にC8との協同的な作用が示唆されていたHOXC9の、A7転写調節への関与を検討することである。これらによって、*Hox*間の相互転写調節の機構が明らかにされるであろう。

[方法ならびに成績]

まず、*HoxC8*と*HoxA7*の発現を正常マウス胚の連続切片に対する*in situ* hybridizationで比較した。*HoxC8*、*HoxA7*の発現は12.5日胚で最大となるが、共に脊髄、後根神経節、椎体で強く、脊髄の前側の発現境界は頸部にあった。発現のピークはその境界より数体節後方の前肢レベルにあり、それより更に後側では次第に発現が弱くなっていた。脊髄の断面においては、*HoxC8*の発現は主として脊髄腹側で見られた。一方*HoxA7*の発現は背側中間層で強いが、C8の発現が高い前肢レベルでは脊髄腹側の発現が顕著に高まっており、その部分でC8の発現と重なっていた。

次に、ジーンターゲットングにより作成された*HoxC8*遺伝子欠損マウス胚(*HoxC8*胚)と、同腹の野性型胚を用いて、*HoxA7*をプローブとして連続切片に対する*in situ* hybridizationを行い、C8存在下、非存在下における*HoxA7*の発現パターンを比較した。その結果、12.5日胚では、野性型胚では前肢レベルで*HoxA7*の脊髄腹側での強発現があるのに対し、*HoxC8*胚ではその部分の強発現が観察されなかった。その前後の頸部、胸部、腹部レベルでは、発現に著明な差が認められなかった。この実験結果は、HOXC8タンパク質は、その強発現領域で*HoxA7*の転写活性化を行っていることを示唆したものであった。他の*Hox*遺伝子欠損マウスの例でも、形態的変異の表現は*Hox*遺伝子の発現の前側境界に集中している。このことから、*Hox*遺伝子の主要な機能部位は、発現の前側境界付近の強発現領域であると一般的に結論されるかも知れない。

*Hox*間の転写調節作用を更に解析するために、タンパク質間の結合や欠損マウスでの変異の類似性等、HOXC8との相互作用が示唆されているHOXC9に注目し、HOXC8の制御標的*HoxA7*に対するHOXC9の転写調節の可能性を検討した。HOXC9遺伝子欠損マウス胚(*HoxC9*胚)と野性型胚を用いて、*HoxA7*の*in situ* hybridizationを行った。その結果、12.5日*HoxC9*胚芽では、脊髄腹側最側部の細胞集団で、*HoxA7*の発現の著明な上昇が観察された。この変化は前肢レベルから胸部レベルまで連続して見られた。この結果より、HOXC9は*HoxA7*に対してC8とは逆に転写を抑制しており、転写調節に関与している領域も異なることが示された。従って、HOXC9も、直接的であれ間接的であれ、*HoxA7*の転写調節に関与しているが、それはHOXC8による転写調節とは異なっていることが明らかとなった。

[総括]

我々がHOXC8の制御標的候補遺伝子として単離した*HoxA7*は、発生過程において、脊髄のHOXC8の主要な機能領域で転写を調節されていることが示された。また、HOXC9も*HoxA7*遺伝子の転写調節に関与しているが、HOXC8とHOXC9の転写調節は異なっていることが示された。

論文審査の結果の要旨

*Hox*遺伝子群は、ヒトをはじめ広く動物界で体制決定に重要な役割を果たす遺伝子群として注目されている。本研究では、*HoxA7*遺伝子に対してHoxC8、C9遺伝子がどのような制御を行なっているのかを、後二者の遺伝子欠損突然変異マウスを用いて詳細に解析したものである。これまで*Hox*が直接に制御する遺伝子は未知であったが、最近A7がC8の直接の制御標的である可能性が指摘され、*Hox*による遺伝子制御の一例がはじめて詳かにされることが期待された。

本研究の結果、HoxC8遺伝子は体軸に沿って広範囲にわたる発現領域のうちで前側発現境界に近い限られた領域においてのみ積極的に*HoxA7*遺伝子の発現を活性化していることが示された。このことは、*Hox*突然変異マウスの示す局所的ホメオシス(相同異質形成)と関連付けられるものである。一方、HoxC9遺伝子は、突然変異マウスの表現型がC8のそれと酷似するにもかかわらず、A7に対して恐らく間接的に、しかも抑制的に作用することが示された。

これらの結果は、*Hox*遺伝子による下流遺伝子の制御の特徴を明かにし、また*Hox*遺伝子の相互制御についての新しい知見をもたらしたものである。従って本研究は学位授与に値すると考えられる。