



Title	MLL遺伝子欠損マウスの作製とその造血異常の研究
Author(s)	八木, 秀司
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40726
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 や 八 木 秀 司

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 3 7 2 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 10 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学研究科内科系専攻

学 位 論 文 名 Mll 遺伝子欠損マウスの作製とその造血異常の研究

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 岸 本 忠 三

(副査)
教 授 北 村 幸 彦 教 授 金 倉 讓

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Mll (All-1, Hrx) 遺伝子は急性白血病の染色体転座部位の一つである11q23上の遺伝子であり、ショウジョウバエでHox遺伝子の発現と胚の発生に関与しているTrithoraxと相同性の高い遺伝子である。現在、Mll遺伝子の解析は遺伝子欠損マウスの解析を含めて報告されている。別のグループより発表されているMll遺伝子欠損マウスの報告では胎生10.5日以降ホモ接合体の生存は確認されていない。また、血液学的解析も卵黄嚢の造血能の解析に限られている。今回、Mll遺伝子の染色体転座部位に注目し、Mll遺伝子の機能解析を目標とし、Mll遺伝子欠損マウスを作製した。

【方法】

遺伝子欠損を行うため、作製したベクターは前述のグループとは異なりエクソン12-14をネオマイシン耐性遺伝子のカセットに置き換えたベクターを作製し、E14-1ES細胞に電気穿孔法で導入したのち、G418とガンシクロヴィルで選別を行った。サザン法で相同組換えの起こったクローンを確認し、C57BL/6Jマウスの胚盤胞に注入しキメラマウスを作製した。キメラマウスをC57BL/6Jマウスと交配し、ヘテロ接合体を得た。ヘテロ接合体同士をかけあわせたホモ接合体を得た。

半固形培地コロニーアッセイは胎生12.5日の肝臓の細胞を用いて行った。胎生12.5日の肝臓を取り出し、機械的に α MEM中に細胞を単離し、トリパンプルを用いて、生細胞の数を数えた。 3×10^4 の細胞を20% FCS, 0.75% メチルセルロース, 2-メルカプトエタノール (100 μ M), サイトカイン (ヒトエリスロポイエチン) (2U/ml), ヒト顆粒球コロニー刺激因子 (10ng/ml), ヒトインターロイキン6 (100ng/ml), マウス顆粒球マクロファージ刺激因子 (100ng/ml) マウスステムセルファクター (100ng/ml), マウスインターロイキン3 (500U/ml) より構成される半固形培地にて5% CO₂, 95%空気中, 37℃にて7日間または14日間培養したのち、顕微鏡下にてコロニーを数えた。

【成績】

このMll遺伝子欠損マウスのホモ接合体は胎生11.5日より14.5日の間で死亡した。胎仔の肝臓では組織学的に造血

細胞の減少をホモ接合体に認めた。肝臓の造血細胞を詳しく調べたところ、赤血球、巨核球、単球、骨髄球の各系統の細胞を認めた。胎仔肝の細胞を用いて、半固形培地上でのコロニーアッセイを行ったところ、コロニー形成の遅延を認めた。Mll 遺伝子が制御していると考えられる Hox 遺伝子の発現を RT-PCR 法にて確認した。胎仔全体を使用し、RT-PCR を行ったところ Hoxc9 と Hoxa7 の発現量が減少している以外には、明らかな異常を認めなかった。

【総括】

Mll 遺伝子は430キロダルトンの蛋白をコードする巨大な遺伝子である。この分子は急性白血病の染色体異常に関与していることで注目されている。今回、機能解析を目標に遺伝子欠損マウスを作成した。他のグループより発表されている Mll 遺伝子欠損マウスはエクソン3より欠損させており、死亡時期は胎生10.5日とされている。今回作成されたマウスは胎生11.5-14.5日にて死亡することが明らかになった。これは遺伝子欠損をエクソン12以降が欠損するように行ったことによると考えている。また、急性白血病発症時、エクソン8より14の間で転座が起こることが多いことを考えると、エクソン12までの短い Mll 遺伝子産物が何らかの機能を持っていることが考えられる。

また、今回の結果より造血に関与している Mll 遺伝子の機能は造血細胞のコロニー形成遅延より、増殖に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は急性白血病に認められる転座点の一つである、11q23上にある Mll 遺伝子の機能解析を目標とし、Mll 遺伝子欠損マウスを作製し、その血液学的異常を解析した結果を報告している。

本論文によれば、作製された Mll 遺伝子欠損マウスは胎生11.5日より14.5日の間で胎生致死となった。Mll 遺伝子欠損マウスの胎仔の造血能を解析した結果、肝臓では造血系の各系統の細胞を認めたが、造血細胞数が減少していた。さらに造血細胞のコロニー形成能を検討した結果、Mll 遺伝子欠損マウスではコロニー形成の遅延を認めた。すなわち、Mll 遺伝子の機能は造血細胞の分化ではなく、その増殖に関わっていることを明らかにした。

この結果は白血病の原因遺伝子の一つである Mll 遺伝子の機能解析のうえで、有意義な結果であり学位に値するものとする。