The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Impaired Expression of Integrin α-4 Subunit in Cultured Mast Cells Derived From Mutant Mice of mi/mi Genotype
Author(s)	金, 大起
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41851
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

【43】

氏　　名	金（きむ）　大（で）　起（き）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15248　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学　位　論　文　名	Impaired Expression of Integrin α-4 Subunit in Cultured Mast Cells Derived From Mutant Mice of *mi*/*mi* Genotype （マスト細胞における *mi* 転写因子によるインテグリンα4サブユニット遺伝子の転写制御）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　北村　幸彦 （副査） 教　授　青笹　克之　　教　授　西宗　義武

論　文　内　容　の　要　旨

目的】

マウス第6染色体*mi*遺伝子座はbasic-helix-loop-helix-leucine zipper構造をもつ転写因子*mi* transcription factor（MITF）をコードする。この遺伝子座に2個の突然変異をもつ*mi*/*mi*ミュータントマウスの皮膚マスト細胞では、数の減少と分化の異常がみられる。*mi*/*mi*マウスがもつ変異型MITFはDNA結合能と核移行能の異常があり転写活性能を失っている。我々は以前、野生型マウス由来培養マスト細胞（+/+CMC）に比べ*mi*/*mi*マウス由来培養マスト細胞（*mi*/*mi*CMC）の線維芽細胞に対する接着能が著明に低下していることを報告した。最近マスト細胞の接着にはインテグリンが重要であることが知られている。今回我々は*mi*/*mi*CMCにおいてインテグリンの発現が低下している可能性があると考え、検討した。

【方法ならびに成績】

+/+、*mi*/*mi*CMCにおいてインテグリン遺伝子の発現をRT-PCR法で解析した。マスト細胞で発現するインテグリンのうち、*mi*/*mi*CMCでインテグリンα4サブユニットの発現が著明に低下していた。+/+CMCではインテグリンα4サブユニット遺伝子の発現は培養開始後4週でピークをむかえ、それ以降低下していくのに対し*mi*/*mi*CMCではどの時期でも全く発現はみられなかった。α4サブユニットに対する抗体を用いたFACSによる解析でも上記と同様の結果が得られた。インテグリンα4サブユニットのリガンドであるVCAM-1を強制発現したCHO細胞に対する接着率も+/+CMCに比べ*mi*/*mi*CMCで低下していた。インテグリンα4サブユニット遺伝子のプロモーター領域を解析したところ、MITFの結合すると考えられる塩基配列、CACTTGが存在した。このCACTTGモチーフを含むプルモーターをルシフェラーゼ遺伝子の上流に挿入し、このレポータープラスミドを正常型MITFとインテグリンα4サブユニットを発現するIC-2マスト細胞に導入したところ、ルシフェラーゼ活性の上昇がみられた。これに対し、CACTTGモチーフを欠失、変異させると、このルシフェラーゼ活性の上昇はみられなかった。CACTTGモチーフをもつレポータープラスミドを正常型MITFあるいは変異型MITFとco-transfectionすると、正常型MITFによりルシフェラーゼ活性は有意に上昇したが、変異型MITFによるルシフェラーゼ活性の上昇は認められなかった。ゲルシフトアッセイにより正常型MITFがCACTTGモチーフに結合することがわかった。

【総括】

以上の結果より*mi*/*mi*マウス由来培養マスト細胞におけるインテグリンα4サブユニットの発現が低下すること、

正常型MITFはインテグリンα4サブユニット遺伝子のプロモーター領域にあるCACTTGモチーフを介して転写を活性化することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

金　大起君はマウスmi遺伝子座にコードされる転写因子mi transcription factor（MITF）がマスト細胞においてインテグリンα-4サブユニット遺伝子の発現に関係することを見出し、その機構を解析した。mi遺伝子座に突然変異をもつmi／miミュータントマウスは転写活性化能を失った変異型MITFをもつ。mi／miミュータントマウス由来培養マスト細胞では、インテグリンα-4サブユニット遺伝子の発現低下がみられ、インテグリンα-4サブユニットの特異的なリガンドであるVCAM－1を発現したCHO細胞との接着能も著明に低下していた。インテグリンα-4サブユニット遺伝子のプロモーター領域を解析したところ、MITFが転写開始点の上流約400塩基付近に存在するCACTTGモチーフに特異的に結合して、転写を活性化することがわかった。本研究によりマスト細胞におけるインテグリンα-4サブユニットの発現にMITFが関与していることが明らかとなり、学位論文に値すると思われる。