

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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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	金 大 起
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 4 8 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 <i>mi/mi</i> Genotype (マスト細胞における <i>mi</i> 転写因子によるインテグリン α 4 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 α 4 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 α 4 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。 α 4 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 α 4 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 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 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 α 4 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 α 4 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 α -4 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。