



Title	Independent Influence of Strain Difference and mi Transcription Factor on the Expression of Mouse Mast Cell Chymases
Author(s)	葛, 藝
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42616
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	葛 藝
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成13年 3 月 23 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	Independent Influence of Strain Difference and <i>mi</i> Transcription Factor on the Expression of Mouse Mast Cell Chymases (マウスマスト細胞プロテアーゼの遺伝子発現に対するマウスの系統差と MITF 転写因子の independent な作用)
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】

マウスの第6染色体上に存在する *mi* 遺伝子は転写因子 MITF をコードしている。*mi* 遺伝子座に2個の突然変異がある C57BL/6-*mi*/*mi* マウスのマスト細胞では mouse mast cell protease (mMCP)-4、-5、-6 の発現が正常 (+/+) マウスに比べると低下しており、これらの遺伝子の発現は MITF によって制御されている。即ち、C57BL/6 マウスでは MITF がプロテアーゼ遺伝子の発現に重要な役割をはたしている。一方、プロテアーゼ遺伝子の発現はマウスの系統によっても異なることが報告されている。しかしながら MITF がプロテアーゼ遺伝子の発現に関与することは C57BL/6 マウスでしか調べられていない。そこで本研究では C57BL/6 マウスに加えて WB マウスでも MITF がプロテアーゼ遺伝子の発現に関与するかどうかを検討した。

【方法ならびに成績】

C57BL/6 マウスで、mMCP-2、-9 の発現に MITF が関与するかどうかを検討するためにまず C57BL/6-+/+ および C57BL/6-*mi*/*mi* マウスから培養マスト細胞を樹立して mMCP-2、-9 の発現を調べた。C57BL/6-+/+ マウスの培養マスト細胞に比べると、C57BL/6-*mi*/*mi* マウスの培養マスト細胞では mMCP-2、-9 の発現が低下していた。C57BL/6-*mi*/*mi* マウスの培養マスト細胞に正常の MITF を過剰発現した細胞では、mMCP-2、-9 の発現が C57BL/6-+/+ マウスの培養マスト細胞と同程度に回復した。このことは mMCP-2、-9 の発現に MITF が関与することを示している。さらに mMCP-2、-9 の 5' 上流域をクローニングして gel shift assay と luciferase assay を行った。その結果、mMCP-2、-9 のそれぞれのプロモーター領域に存在する CANNTG 配列に MITF が結合して転写を活性化していることが示された。

次にマウスの系統によるプロテアーゼ遺伝子の発現の差を調べるために、C57BL/6-+/+ マウスと WB-+/+ マウスの培養マスト細胞における各プロテアーゼの発現を比較した。mMCP-2、-4、-9 の発現は C57BL/6-+/+ マウスより WB-+/+ マウスの方が発現が高かった。一方、mMCP-5、-6 の発現はこれらのマウス間で差がなかった。

さらに WB マウスでも MITF がプロテアーゼ遺伝子の発現に関与するかどうかを検討するために、WB マウス由来のプロテアーゼ遺伝子と正常 MITF 遺伝子をもつマウス (+/+ マウス) と WB マウス由来のプロテアーゼ遺伝子と変異型 MITF 遺伝子をもつマウス (*mi*/*mi* マウス) を作製した。これらのマウスの培養マスト細胞では、

mMCP-2、-4、-5、-6、-9の発現は+/+マウスよりも *mi/mi* マウスで低下していた。また WB マウスと C57BL/6 マウスの mMCP-2、-4、-9 のプロモーター領域を比較した結果、MITF が結合する CANNTG 配列は両方のマウスで保存されていた。これらの結果は WB マウスでも MITF がこれらのプロテアーゼ遺伝子の発現に関与することを示している。

【総括】

マウスのマスト細胞プロテアーゼ遺伝子の発現には *mi* 突然変異とマウスの系統差が影響するがこれらの作用はお互いに独立である。また *mi* 突然変異とマウスの系統差は mMCP-2、-4、-9 遺伝子の発現に対して加算的に作用する。

論文審査の結果の要旨

マウスの第6染色体上に存在する *mi* 遺伝子は転写因子 MITF をコードしている。C57BL/6 マウスでは、*mi* 遺伝子座に2個の突然変異がある *mi/mi* マウスのマスト細胞における mouse mast cell protease (mMCP) -4、-5、-6 の発現が、正常 (+/+) マウスに比べると低下しており、これらの遺伝子の発現は MITF によって制御されている。一方、プロテアーゼ遺伝子の発現はマウスの系統差によっても異なるので、葛藝君は WB マウスでも MITF がプロテアーゼ遺伝子の発現に関与するかどうかを検討した。まず C57BL/6 マウスで、mMCP-2、-9 の発現制御についても調べた結果、+/+マウスよりも *mi/mi* マウスで発現が低下しており、それぞれのプロモーター領域に存在する CANNTG 配列に MITF が結合して転写を活性化していることがわかった。次にマウスの系統によるプロテアーゼ遺伝子の発現の差を調べたところ、mMCP-2、-4、-9 の発現は C57BL/6 -+/+マウスより WB -+/+マウスの方が高いのに対して、mMCP-5、-6 の発現はこれらのマウスの間で差がなかった。さらに WB マウスでも mMCP-2、-4、-5、-6、-9 の発現は+/+マウスよりも *mi/mi* マウスで低下しており、MITF はこれらのプロテアーゼ遺伝子の発現に関与すると考えられた。以上の結果から、マウスのマスト細胞プロテアーゼ遺伝子の発現には *mi* 突然変異とマウスの系統差が影響するが、これらの作用はお互いに独立であること、及び *mi* 突然変異とマウスの系統差は mMCP-2、-4、-9 遺伝子の発現に対して加算的に作用すると考えられた。本研究により、マスト細胞プロテアーゼ遺伝子の発現機構が明らかとなり、これは学位の授与に値すると考えられる。