The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of Promoter Regions Involved in Cell-and Developmental Stage-Specific Osteopontin Expression in Bone, Kidney, Placenta, and Mammary Gland : An Analysis of Transgenic Mice.
Author(s)	東端, 裕司
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45292
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

【46】

氏　　名	東　端　裕　司（ひがし　ばた　ゆう　じ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４７４　号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学　位　論　文　名	Identification of Promoter Regions Involved in Cell-and Developmental Stage-Specific Osteopontin Expression in Bone, Kidney, Placenta, and Mammary Gland : An Analysis of Transgenic Mice. **（骨、腎臓、胎盤、乳腺における細胞および時期特異的発現調節を行うオステオポンチンプロモーター領域の同定：トランスジェニックマウスの解析）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　北村　幸彦 （副査） 教　授　岡部　　勝　　教　授　吉川　秀樹

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

オステオポンチン（OPN）はシアル酸を多く含み、高度にリン酸化された非コラーゲン性の骨基質タンパク質である。OPN はインテグリン、CD44 に結合し、細胞接着に寄与する RGDS（Arg-Gly-Asp-Ser）モチーフと、生理的、あるいは病的な石灰化に関与するカルシウム結合領域を有する。OPN は骨組織の骨芽細胞と肥大軟骨細胞、腎臓の尿細管上皮細胞、胎盤の GMG 細胞（Granulated metrial gland cell）、乳腺の分泌上皮細胞、内耳の感覚有毛細胞に発現する。また石灰化を伴う病変では腎結石発生時の尿細管上皮細胞、動脈硬化巣をとりまくマクロファージ、乳癌石灰化部位周囲に認められるマクロファージに発現が認められる。本研究は、生理的、あるいは病的状態において OPN の発現機構を明らかにすることを最終目的とし、組織細胞特異的な OPN の発現調節を調節している遺伝子プロモーター領域を決定することを目的として行われた。

【方法】

OPN プロモーターをコードするゲノム領域をファージライブラリーから単離した。さまざまな長さの OPN プロモーター領域（遺伝子転写開始点より 5.5 kb、3.1 kb、1.5 kb、0.9 kb）を GFP（Green fluorescent protein）cDNA に連結し、これらを導入したトランスジェニックマウス（GFP-OPN5.5、GFP-OPN3.1、GFP-OPN1.5、GFP-OPN0.9）を作成した。それぞれ複数のトランスジェニックマウスの系統を樹立し、GFP の組織特異的、細胞特異的な発現解析をノーザンブロティング、ウェスタンブロティング、*in situ* hybridization、免疫組織染色、自家蛍光検出で行った。また、発生時期特異的なトランスジーンの発現変化を同様の方法で解析した。

【成績】

転写開始点から上流 5.5 kb の断片を挿入した複数のトランスジェニックマウス（GFP-OPN5.5）の系統で骨芽細胞、

肥大軟骨細胞、尿細管上皮細胞、胎盤 GMG 細胞、乳腺分泌上皮細胞に GFP の発現を認めた。この発現分布と発生時期特異性は OPN 発現細胞と一致することを二重蛍光干渉により証明した。一方、これより短い 3.1 kb、1.5 kb、0.9 kb という長さのプロモーターを持つトランスジェニックマウス（GFP-OPN3.1、GFP-OPN1.5、GFP-OPN0.9）では GFP を発現する細胞が GFP-OPN5.5 と異なり、複数の系統に共通するそれぞれ別の発現パターンを示していた。GFP-OPN3.1 では肥大軟骨細胞、軟骨細胞、骨芽細胞、尿細管上皮細胞、胎盤 GMG 細胞に GFP の発現を認め、GFP-OPN1.5 では肥大軟骨細胞、軟骨細胞、骨芽細胞、線維芽細胞に GFP の発現を認めたが、GFP-OPN0.9 では全ての組織に有意な GFP の発現が検出されなかった。以上の結果より OPN プロモーターのどの部分が組織特異的な発現を規定しているかをそれぞれ決定した。

【総括】

OPN プロモーターの組織特異的な発現調節にはそれぞれ以下に示す転写開始点上流領域が必要である。

1）肥大軟骨細胞では 0.9 kb から 1.5 kb の間。2）乳腺上皮細胞では 3.1 kb から 5.5 kb の間。3）尿細管上皮細胞では 1.5 kb から 3.1 kb の間。4）GMG 細胞では 1.5 kb から 3.1 kb の間。5）骨芽細胞では 0.9 kb から 1.5 kb の間。

さらに、3.1 kb から 5.5 kb の間は軟骨細胞での発現抑制を担う部分、3.1 kb から 5.5 kb の間は線維芽細胞での発現抑制を担う部分であることが判明した。

論文審査の結果の要旨

オステオポンチン（OPN）は代表的な骨の基質蛋白である。OPN は生理的石灰化のみならず、動脈硬化、尿路結石をはじめとする病的石灰化にも関与している。申請者の研究は OPN 遺伝子の組織特異的な発現を担う遺伝子上流域をトランスジェニックマウスの解析を行って明らかにしたものである。その結果、骨組織を構成する様々な細胞、あるいは腎臓、胎盤、乳腺といったそれぞれの組織で別の遺伝子上流領域が OPN の発現をコントロールしていることを明らかにした。オステオポンチン遺伝子を欠損する動物では力学的負荷、性ホルモン除去に対して異常な骨代謝が認められること、また病的石灰化の促進が認められることから、本研究は組織特異的な遺伝子発現機構を解析したことにとどまらず、病気の発生と進行の分子機構に有用な知見を与えるものと考える。したがって論文審査担当者はこの研究を博士（医学）の学位授与に値すると考える。