

平成 18 年度 ( 第 37 回 )  
海外留学補助金による研究経過・成果報告書

受賞者名: 細谷朋方

グロビン蛋白質は、血中において酸素運搬を担うヘモグロビンの主要構成因子である。鎌状赤血球症(Sickle Cell Disease)は、最初にその分子異常が同定された遺伝性貧血であり、 $\beta$ グロビン蛋白質のアミノ酸変異により HbS ( $\alpha_2\beta^s_2$ )が産生される。米国内では 70,000 人以上の患者がおり、また毎年およそ 1,000 人の新生児がこの病気に罹患して生まれている。基礎的および臨床的研究から、胎児型のヘモグロビンである HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )が多いと症状が軽減されることが報告されている。受賞者の留学先である Dr. JD Engelらのグループでは、先に  $\epsilon$  および  $\gamma$  グロビン遺伝子の抑制因子である DRED 複合体を発見した。鎌状赤血球症患者において、DRED 複合体の活性を抑制できれば、 $\gamma$  グロビン遺伝子の発現を増加させ、HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )の産生量を増やせるため、鎌状赤血球症の症状を軽減できることになる。受賞者の留学先での研究目的は、DRED 複合体によるグロビン遺伝子の制御機構を解明することにより、鎌状赤血球症の治療に新たな方針を考えることである。

先に、Dr. JD Engelらのグループは、DRED 複合体の DNA 結合中心として転写因子 TR2/TR4 を単離し、TR2/TR4 欠損マウスにおいて実際に  $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  h1 (ヒトにおける  $\epsilon$ ,  $\gamma$  にそれぞれ対応) 遺伝子の発現上昇がみられること、さらにヒトの  $\beta$  グロビン遺伝子座全域を含む YAC (Yeast Artificial Chromosome, 酵母人工染色体) トランスジーンを持つマウスと交配する事により、ヒト  $\epsilon$ ,  $\gamma$  グロビン遺伝子の発現上昇がみられることを報告している。また、オランダの Dr. F Grosveldらのグループとの共同研究により、TR2/TR4 と結合する転写コファクター候補を複数同定しており、DRED 複合体による抑制メカニズムの解明を行っている。受賞者は他の研究員らとともに、これら TR2/TR4 と結合する因子の中でどの分子が実際にグロビン遺伝子制御に関与しているかを解明している。受賞者は、複数の転写コファクター候補の中で転写抑制共役因子 TIF1 $\beta$  に関する解析を中心に行った。Tif1 $\beta$  遺伝子欠損マウスが、他のグループにより作製・報告されていたため、共同研究として譲渡を受けた。Tif1 $\beta$  遺伝子完全欠損マウスは胎生致死であるため、Cre-loxP システムを用いて赤血球特異的欠損マウスを解析した。具体的には、Epor 遺伝子座に GFP-cre 遺伝子を挿入した Epor<sup>GFP-cre</sup> knock-in マウスと Tif1 $\beta$ <sup>lox</sup> マウスを交配することにより、赤血

球特異的 *Tif1 $\beta$*  遺伝子欠損マウスを得た. このマウスにおいてグロビン遺伝子の発現量を RT-PCR 法により測定した所, 胎児期, 成体期ともに,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$  にそれぞれ対応) グロビンの全てにおいて, コントロールマウスと比べて顕著な増減は観測されなかった. TIF1 $\beta$  と TR2/TR4 の結合についてはオランダのグループで免疫沈降法により事前に確認されていたのだが, 受賞者らのグループで異なる3つの抗体を用いて同様の方法により再度検討した所, 明確な結合を再確認できなかった. そこで, 受賞者らのグループでは, これ以上の解析を継続することを中止した. ただし, 同時に行なっていた *Mx1cre* トランスジェニックマウスを用いた成体期における全身性誘導的 *Tif1 $\beta$*  遺伝子欠損マウスを用いた予備実験において, 赤血球の発生異常を示唆するデータが得られたため, グロビン遺伝子制御とは別のプロジェクトとして, TIF1 $\beta$  の赤血球発生に関わる機能解析を再開する予定である. 他のコファクター候補因子に関して, また他のアプローチによる DRED 複合体の活性抑制に関しても, Dr. JD Engelらのグループにおいて解析が進められている.

受賞時には, 平成19年3月1日より平成21年2月28日までの24ヶ月間の留学期間を予定しておりましたが, 留学期間を延長することが決定致しましたので, 海外留学補助金収支報告書の帰国日を未記入とさせていただきます. 受賞者にとって今まで2年間の海外留学は, 今後の研究活動を続けるにあたって非常に有意義なものであったと深く感じております. 病態代謝研究会からの海外留学補助金を受賞させて頂いたことに対して厚く御礼申し上げます.

