

審査の結果の要旨

氏名 川村 暢幸

本研究は、真核生物の転写伸長因子 S-II の、マウス生体内での遺伝子発現における機能を解析したものである。

S-IIは、RNA polymerase IIのRNA合成活性の促進を指標に精製された転写伸長因子である。これまでの研究により、S-II遺伝子欠損マウスは胎齢13.5日前後で致死となることが示され、さらにS-II遺伝子欠損マウス胚において、赤血球産生の異常が見いだされていた。

申請者は、S-II遺伝子欠損マウス胚を用いて、胎児肝における赤血球産生が低下していることを見いだした。また、S-II遺伝子欠損胚の胎児肝ではアポトーシスを起こした細胞数が増加していることを見だし、そのアポトーシスを起こした細胞は赤血球系譜細胞（赤芽球）である可能性を指摘した。次に、赤血球分化の過程において重要な役割を果たしていることが報告されている抗アポトーシス因子Bcl-xLの発現量を定量的RT-PCR法によって調べ、S-II遺伝子欠損胚の胎児肝でBcl-xL遺伝子の発現量が、野生型胚の約1/2に低下していることを示した。

申請者は、Bcl-xL遺伝子の発現がErythropoietin-STAT5シグナル伝達系路により制御される点に着目し、S-II欠損胚におけるErythropoietin-STAT5シグナル伝達系路の動作解析を試みた。まず、Erythropoietin (Epo)の発現量について定量的RT-PCR法により調べた結果、S-II欠損胚におけるEpo発現量は野生型と比べて低下していなかった。次にSTAT5の発現量について定量的RT-PCR法、及びWestern blotting法により調べた結果、S-II欠損胚におけるSTAT5発現量も野生型と比べて低下していなかった。最後にSTAT5のEpo刺激に応じた活性化状態についてWestern blotting法により調べた結果、S-II欠損胚の胎児肝細胞をEpo刺激した場合も野生型と同程度にSTAT5が活性化された。以上の結果から、S-II欠損胚においてもEpo-STAT5シグナル伝達系路は、STAT5の活

性化までの段階について正常に動作していることを示した。

さらに、申請者は、S-II遺伝子欠損胚においても、Epo-STAT5シグナル伝達系の正常動作にもかかわらず、Bcl-xL遺伝子の発現量が低下していた点について、S-IIがBcl-xL遺伝子の転写段階で促進的に寄与することを予想し、申請者が樹立したS-II欠損Embryonic fibroblast細胞株とBcl-xL遺伝子のプロモーター領域と5'非翻訳領域にレポーター遺伝子を連結したコンストラクトを用いたレポーターアッセイにより検証した。その結果、S-IIの共発現により、レポーター活性が上昇することを示した。また、このレポーター活性の上昇はS-IIのC末端領域を導入した場合には、レポーター活性の上昇が見られず、S-IIのN末端領域を導入した場合には、全長型を導入した場合と同様にレポーター活性の上昇が見られることを示した。この結果から、従来の試験管内や酵母での報告とは異なり、Bcl-xL遺伝子の発現促進にはS-IIのN末端領域だけで必要十分であることを示した。

以上、本研究は、赤血球産生におけるS-IIの機能について、赤血球産生に必須なBcl-xL遺伝子の発現に際して促進的に寄与することを示し、S-IIによるBcl-xL遺伝子の発現促進は赤血球産生に必須であることを提唱したものである。申請者の報告は、マウス生体内でS-IIが特定の遺伝子の発現促進に寄与すること、並びに、S-IIのN末端領域が遺伝子発現に促進的に寄与することを示した初めての報告であり、分子生物学に寄与するところが大きい。また、S-II欠損マウスの致死性という表現型について分子レベルで原因を提示し、マウス胚発生におけるS-IIの重要性を指摘した点は発生生物学に寄与するところが大きい。したがって、本研究は、博士（薬学）の学位に値するものと判定した。