

岡田 欣晃 (Yoshiaki OKADA)

大阪大学大学院薬学研究科 (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

個体を形成する細胞は全ての遺伝子がコードされた同じゲノム配列を持っているが、いくつかの遺伝子は特定の組織にしか発現しない。この組織特異的な遺伝子発現はどのように生み出されているのであろうか。骨格筋においては「骨格筋特異的に発現する転写因子 MyoD が、骨格筋特異的に発現する遺伝子発現を制御する」というシンプルなモデルで説明された。しかし、我々の研究する血管内皮細胞（以後、内皮細胞）を含め、他の多くの組織では MyoD のようなマスターレギュレーターは発見されておらず、各組織に特異的に遺伝子が発現するメカニズムは不明である。そこで我々は組織特異的遺伝子発現の新メカニズムの提唱を目的とし、内皮細胞特異的に発現する Robo4 遺伝子の発現制御メカニズムを、転写因子とエピジェネティクスの両側面から解析した。

1) 転写因子の観点からのアプローチ

内皮細胞におけるマスターレギュレーターの役割を担う転写因子を探索するにあたり、まず、ヒト Robo4 遺伝子上流 3 kb の配列が、Robo4 遺伝子を内皮細胞特異的に発現させるプロモーターであることを証明した。このプロモーターの配列を動物種間で比較したところ、4 つの領域が進化の過程で高度に保存されていることが明らかになった。それぞれの領域には SP1、ETS 結合配列をはじめとする複数の転写因子結合配列が存在したため、これらの配列に結合する因子の探索を行ったところ、SP1、GABP を含む 8 種の転写因子が同定され、それらが Robo4 遺伝子の発現制御を担うことを明らかにした。

2) エピジェネティクスの観点からのアプローチ

Robo4 の発現を制御する複数の転写因子の同定に成功したが、これら因子の発現は内皮細胞特異的ではなく、これらのみで Robo4 遺伝子が内皮細胞特異的に発現するメカニズムを説明することはできなかった。そこで、近年、遺伝子発現制御への重要性が急速に証明されつつあるエピジェネティクスの関与を考え、特に DNA メチル化に着目した。Robo4 遺伝子を発現する内皮細胞と、発現しない非内皮細胞におけるプロモーターのメチル化修飾の解析したところ、転写開始点付近の配列は内皮細胞では非メチル化、非内皮細胞では高メチル化という、組織特異的なメチル化パターンをとることを発見した。さらに、この領域のメチル基を除去するとプロモーターは活性化され、逆にメチル化すると転写因子の結合が阻害されプロモーター活性が抑制された。これらの結果から、プロモーターのメチル化修飾は Robo4 遺伝子の転写を ON/OFF するスイッチとして機能し、内皮細胞特異的な発現を生み出すことが証明された。以上、本研究において、転写因子とエピジェネティクスの両者による組織特異的遺伝子発現の制御の新しいモデルを提唱することに成功した。

本研究を遂行するにあたり終始ご指導、ご支援を頂きました、大阪大学大学院薬学研究科 土井健史先生、ハーバード大学医学部 William Aird 先生、共に研究に取り組んでくれたチームメンバー、共同研究者の皆様が心より感謝申し上げます。