

((様式第9 別紙2 : 公開版))

養成技術者の研究・研修成果等

1. 養成技術者氏名 : 岡 新一

2. 養成カリキュラム名 : 抗ストレスタンパク質チオレドキシリン阻害因子 TBP-2 の遺伝子欠損マウスの作成による機能解析

3. 養成カリキュラムの達成状況

TBP-2 遺伝子欠損マウスの作成、その確認実験など、予定通り終了し、本カリキュラムは、順調に遂行中である。しかし、いくつかの変更を行った。カリキュラムでは、この遺伝子欠損マウスで見られた異常の発生機構をプロテオーム解析により、検討する予定であったが、本因子が遺伝子発現調節を介してその機能を発揮しているとの知見が集積してきたため、遺伝子発現解析、遺伝子チップ解析に変更を行った。すでにその結果を得ており、現在、詳細な検討を行っている。一方、新たに発ガン誘導実験と予想されていなかった表現型についての解析を行っている。これらの変更は、カリキュラムの進行が遅れたために行ったのではなく、得られた結果を元により良い成果を効率良く得るために行った変更である。

4. 成果

抗ストレスタンパク質チオレドキシリンの阻害因子として同定された TBP-2 は、我々や他の研究グループにより、癌細胞においてその発現が減少しており、逆に TBP-2 遺伝子をこれらの癌細胞に戻すことにより、その増殖を抑制することから、癌抑制因子として機能することが示唆されている。また、血清中のコレステロール、中性脂肪が上昇する家族性複合型高脂血症の症状を呈するモデルマウスにおいて、TBP-2 の変異が報告されており、高脂血症の原因遺伝子の一つと考えられる。ヒトでは、1~2%がこの変異を保有しており、発症頻度が高く重大な遺伝性疾患と考えられる。高脂血症は、遺伝的な背景以外にも、生活習慣病としての側面を持ち、食生活の変化や高齢化に伴い、患者数は増加傾向にある。また、高脂血症は、動脈硬化、脳血管障害、虚血性心疾患、心不全などの主要なリスクファクターの一つである。これらのことから、癌および、高脂血症の発生機構の解明やその治療法の確立は、国民生活の向上において重要であり、医療費の面からも最も費用効率が良くなる医療分野であると考えられる。

本カリキュラムでは、TBP-2 の遺伝子だけを特異的に欠損した TBP-2 遺伝子欠損マウスを作成す

ることにより高等生物を使った個体レベルでの解析を行うことを特徴とし、TBP-2 と癌や高脂血症との関連を明らかにするとともに、その発症機構の解明と治療法の開発に向けた基礎的な知見の収集を目的とする。また、作成した遺伝子欠損マウスは、上記の疾患のモデル動物として治療法の確立に向けた動物実験にそのまま用いることが可能であり、これにかかる費用、時間を削減することができる」と期待される。

本年度の第一の成果として、TBP-2 遺伝子欠損マウスの作成に成功した。実際にゲノム上の TBP-2 遺伝子が欠損しており、複数の臓器においてメッセンジャーRNA のレベルでその発現が完全に消失していることを確認した。また、実験動物としての信頼性を高め、個体差を減少させるため ICR, C57BL/6J, BALB/c などの遺伝的純系のマウス系統に複数回戻し交配を行い、遺伝的な均一性を高めた系統を作成しており、現在も継続中である。これらの純系マウスは、それぞれに特徴を有しており、今後、免疫応答などの様々な実験系に用いることが可能である。

TBP-2 遺伝子欠損マウスは、出生可能であり、通常の飼育条件では目立った異常はなく、雌雄共に生殖能力も保持していた。現在、最も早く誕生したもので約8カ月齢であるが、自然発症的な癌の発生は見られず、癌抑制因子としての機能を実際に生体内で持っているかどうかは不明である。現在、人為的に癌を誘導する実験系において、癌抑制能については検討中である。

一方、血清成分のいくつかのものが、ある特殊な条件下において異常値を示すことを血液生化学検査により明かにしている。これらの異常は、典型的な高脂血症の症状とは異なるが、いくつかの疾患の病態に似ており、本遺伝子欠損マウスは、それら疾患のモデルマウスとして有用であることが示された。また、この機構を解析することにより、それらの疾患の発症機構について基礎的な知見が得られると考えられる。TBP-2 遺伝子欠損マウスにおける異常の発症原因を解析するために遺伝子チップ解析を行い、いくつかの候補原因遺伝子を得ており、現在詳細に解析中である。

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。)

The Role of Thioredoxin in Aging Process involvement of Oxidative Stress. Toru Yosida, Shin-ichi Oka, Hiroshi Masutani, Hajime Nakamura and Junji Yodi. *Antioxidant & redox signaling*, 2003, 5, 563-70.

Loss of thioredoxin-binding protein-2/vitamin D3 up-regulated protein 1 in human T cell leukemia virus type1-dependent T-cell transformation: implications for adult T-cell leukemia leukemogenesis. Yumiko Nishinaka, Akira Nishiyama, Masutani H, Shin-ichi Oka, Kaimul Md. Ahsan, Yukie Nakayama, Yasuyuki Ishii, Hajime Nakamura, Michiyuki Maeda, Junji Yodoi. *Cancer Res.* 2004. 64(4), 1287-92.

(2) 口頭発表 (発表済を対象。)

岡新一、増谷弘、西中由美子、Md Kaimul Ahsan、中村肇、淀井淳司

Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2)/Vitamin D3 up-regulated protein 1 (VDUP1)ファミリータンパク質 TBP-2/ VDUP1 γ の細胞内局在と結合タンパク質の同定 第26回 日本分子生物学会 兵庫県神戸市 2003年12月

(3) 特許等の出願件数
なし