

Title	Regulation of ocular lens development by SIP1 (Smad-interacting protein-1) involving Foxe3 Activation
Author(s)	好本, あき
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/46508
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	好本あき
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 19795 号
学位授与年月日	平成 17 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Regulation of ocular lens development by SIP1 (Smad-interacting protein-1) involving Foxe3 activation (SIP1 (Smad-interacting protein-1) による、Foxe3 の活性化を介した レンズ発生の調節)
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人 (副査) 教授 八木 健 教授 岡田 雅人

論文内容の要旨

転写制御因子 SIP1 は、胚発生において様々な組織で発現されており、胚発生に重要な役割を持っていると考えられている。また、その名の通り BMP 及び TGF β の伝達因子 Smad と結合するが、個々の組織での役割や、Smad との結合の意味については、いまだ不明な点が多かった。

SIP1 は δ EF1 とともに ZFH1 ファミリーに属する。 δ EF1 はニワトリのレンズ特異的なタンパクである δ クリスタリンのエンハンサーに結合する因子として同定されたが、レンズでの機能はいまだ明らかでない。マウスのレンズでは δ EF1 のかわりに SIP1 が発現されている。もしマウスのレンズの SIP1 がニワトリのレンズの δ EF1 に相当するとすれば、レンズでの SIP1 の役割を明らかにすることで、ZFH1 ファミリー全体の機能を知ることができるかもしれない。また、レンズ発生には BMP/TGF β シグナルが関与しているので、SIP1 のレンズでの機能から、SIP1 と Smad との結合の意味を明らかにできると考えた。

SIP1 のレンズ発生における役割

レンズ発生においては、レンズプラコードの形成とともに発現されはじめ、その後レンズ上皮とレンズ繊維の分化がすすむにつれて、レンズ上皮及び、未成熟なレンズ繊維のある弓領域に発現が限局される。

レンズにおける SIP1 の役割を調べるため、loxP 配列によって挟まれた SIP1 遺伝子をもつマウスと、レンズでのみ Cre を発現するマウス (Pax6-Cre) を交配することにより、レンズ特異的に SIP1 遺伝子を欠失させた。

SIP1 を失ったレンズには、主に次のような異常がみられた。①レンズが外胚葉につながったままになる。②レンズは小さく中空でレンズ繊維の伸長がみられない。このことは、SIP1 がレンズにおいてレンズ繊維の発生と、レンズを外胚葉からくびりきるという、別々の過程に関わっていることを示している。

レンズが外胚葉につながったままになるという症状は、Foxe3 の変異マウスにみられるものとよく似ている。Foxe3 の発現は、SIP1 を失ったレンズでは失われており、このことから、Foxe3 は SIP1 の下流で働いていることが示された。SIP1 を失ったレンズではまた、 β クリスタリンを産生する未成熟な繊維はできているものの、 γ クリスタリンを発現する成熟したレンズ繊維はできていなかった。これは SIP1 がレンズ繊維の成熟に必要であることを示している。

SIP1 の Foxe3 の転写制御における役割

SIP1 が Foxe3 の発現をどのように制御しているかを調べるため、Foxe3 のプロモーターに対する効果を調べた。トランスジェニックマウスを用いて、6.2 kb の Foxe3 プロモーターは発生中のレンズで活性を持つことを確認した。また、プロモーターの一部領域を欠失させる実験によって、上流 1.2 kb から 4 kb にかけての領域に、レンズでの領域特異性を担う配列が存在することを明らかにした。

初代培養細胞における、トランスフェクションを用いた実験から、Foxe3 プロモーターは、SIP1 によって活性化され、そこに Smad8 が加わるとさらに活性化が増強されることがわかった。Smad8 による活性化の増強は、SIP1 の SBD (Smad binding domain) に依存することから、SBD を介して SIP1 と Smad が直接的に相互作用していると考えられた。このような SIP1 による活性化と、Smad8 による活性化の増強は、近傍 1.26 kb のプロモーター領域でもおこるため、レンズ特異的な遺伝子発現制御とは別の機構である。

これまで SIP1 は Smad と結合するということが知られていたが、本研究によって SIP1 と Smad との相互作用が、実際に SIP1 の転写制御活性を調節するということを明らかにした。

このような SIP1 と Smad の相互作用が、BMP/TGF β シグナルの伝達に依存しているかということについては、本研究からは明らかになっていない。しかし、レンズ繊維の成熟にはいくつかの BMP シグナルが重要であることが知られており、SIP1 を失ったレンズで成熟したレンズ繊維が作られなかったことから、SIP1 と Smad の相互作用が Smad を介してこれらのシグナルを伝達するのに働いている可能性がある。

論文審査の結果の要旨

申請者は、転写制御因子 SIP1 が、水晶体 (レンズ) 発生の調節にどのようにかかわっているのかを研究した。BMP 系シグナルの細胞内伝達の仲介分子 Smad の結合因子として単離された SIP1 の作用機構には不明な点が多く、一方で SIP1 を欠失したマウス胚は早期に発生を止めるために、SIP1 の作用機構の解析は限られたものとどまっていた。

この状況下で申請者は、発生過程の転写制御の理解がすすんだ組織である水晶体を選び、マウスの SIP1 遺伝子を水晶体特異的に不活性化する方法を開発した。この方法をマウス胚に適用して、SIP1 欠損の状態では、(1)水晶体が、外胚葉から切り離されずに角膜とつながったままになること、(2)水晶体細胞の成熟が β -クリスタリンを合成する段階で止まり、 γ -クリスタリンを合成する成熟した水晶体繊維細胞がほとんど生じないことを示した。申請者は次いで、(1)の現象が FoxE3 遺伝子の発現が活性化されないことに起因することを明らかにし、更に FoxE3 遺伝子のプロモーターが SIP1 の作用によって活性化されること、その活性化は SIP1 と Smad8 との相互作用によって更に増強されることを示した。

本研究は、多段階の細胞分化の調節に SIP1 が積極的に関与することを、水晶体発生を舞台として明確に示したものであり、また Smad 分子との相互作用が SIP1 の転写制御活性を調節することをはじめて証明したものである。本研究が、胚発生を制御する転写調節機構の理解に貢献するところは大きく、博士 (理学) に値するものと認める。