

氏名(本籍)	すずき やすひろ 鈴木 康弘(山形県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	博甲第2287号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Studies on the Novel Mechanism for Transcriptional Regulation by Retinoid (レチノイドによる新規転写調節機構に関する研究)
主査	筑波大学教授 工学博士 松村 正利
副査	筑波大学教授 理学博士 宗像 英輔
副査	筑波大学教授 農学博士 馬場 忠
副査	筑波大学教授 農学博士 深水 昭吉

論文の内容の要旨

ビタミンA(レチノイド)は抗夜盲症因子として単離されたが、その生理作用は多岐にわたり、多くが細胞の増殖・分化・機能の制御と深く関わっている。レチノイドの生理作用の本質は、細胞の核内に存在するレチノイン酸受容体(RAR)、あるいはレチノイドX受容体(RXR)を通して標的遺伝子の発現を調節することにある。レチノイドが結合したRARとRXRは、ヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子プロモーター中の特異的配列(RAGE; Retinoic Acid Responsive Element)に結合して、標的遺伝子の転写活性を高めることが知られている。しかしながら、全てのレチノイド応答遺伝子のプロモーターにRAREが存在するわけではない。

これまでの研究から、レチノイドは、血管内皮細胞を始めとして幾つかの細胞に作用し、組織線溶因子であるプラスミノゲン活性化因子(PA)、及びその細胞表面受容体の発現を高めることによって組織プラスミン活性を高め、潜在型分子として産生されるTGF- β の放出・活性化を引き起こすとともに、TGF- β 受容体の発現も高めることによって、局部においてTGF- β を介して細胞の機能を制御すること(これら一連の変化をPA/プラスミン/TGF- β 系と称する)がわかってきた。そこで、本研究では、PA/プラスミン/TGF- β 系のスタート地点となるPA遺伝子発現促進の分子機構を解析するとともに、PA/プラスミン/TGF- β 系が血管新生、肝臓の線維化にどのように働いているのかについて検討を行った。

ノーザンブロット及び特異的アゴニスト・アンタゴニストを用いた解析から、PA遺伝子の発現促進には、RARの誘導・活性化が必須であることがわかった。しかしながら、PA遺伝子プロモーター中にはRAREが見当たらず、RARに加えて他の転写因子が介入する新しい転写調節機構の存在が予想された。そこで、PA遺伝子の基本的発現を司る転写因子Sp1の関与について検討を行った。PA遺伝子プロモーター中からGC box(Sp1結合配列)を除去するか、あるいはSp1のGC boxへの結合を特異的に阻害すると、RARによるPA遺伝子の発現が顕著に抑制され、RARを介するPA遺伝子の発現促進にSp1が重要な役割を担うことが示唆された。さらに、RARとSp1の直接的相互作用について解析したところ、RARはSp1のC末領域(DNA結合ドメインを含む)に結合することによって、Sp1のGC boxへの結合能を顕著に高め、Sp1の転写活性化能を増大することによってPA遺伝子の転写を促進していることを見出した。

次に、RAR/RXR-Sp1相互作用による転写調節機構の生物学的意義について二つの系において検討してみた。まず、ニワトリ胚漿尿膜上の血管形成モデルを用いて、レチノイドの血管形成に与える影響を調べた。レチノイド

は濃度依存的に血管形成を阻害し、この阻害作用は抗TGF- β 抗体によりTGF- β の働きを抑制することによって消失することから、レチノイドによる血管形成の阻害作用には、少なくとも部分的にTGF- β が関与することが示唆された。

次に、ラット肝線維化モデルを用いた検討から、肝臓が障害を受けるとビタミンA貯蔵細胞である肝星細胞においてビタミンAの代謝が高まり、ビタミンA活性代謝産物（レチノイン酸）の新規異性体が産生され、この物質によってRARの誘導・活性化→細胞表面プラスミン活性の上昇→TGF- β の産生・活性化→コラーゲンの産生促進という一連の変化が引き起こされ、肝線維化が促進されることを見出した。

以上、レチノイドが血管内皮細胞や肝星細胞に作用すると、レチノイドにより誘導されたRARがRXRと共にSp1と物理的相互作用し、Sp1のGC boxへの結合能を顕著に高めることでSp1による転写活性を促進するという新規転写制御機構を通してPA遺伝子の発現を促進しており、PA遺伝子の発現促進を基に引き起こされるPA/プラスミン/TGF- β 系は、レチノイドによる血管形成阻害、肝線維化促進に深く関与していることが示唆された。今回明らかとなったRAR/RXR-Sp1相互作用は、従来の機構では説明不可能だったレチノイド応答遺伝子の転写調節を理解する上で非常に有効であると考えられる。

審査の結果の要旨

ビタミンAは、動物細胞の機能制御に必須の脂溶性ホルモンである。ビタミンA及びその誘導体（レチノイド）は、細胞の核に存在するレチノイン酸受容体（RAR）、並びにレチノイドX受容体（RXR）を介して標的遺伝子プロモーター上のレチノイド応答配列に作用し標的遺伝子の転写を制御することにより、生理作用を発揮すると考えられている。しかし、レチノイド応答配列を持たない標的遺伝子も数多く知られており、その転写調節機構に関しては不明な点が多い。

本研究では、レチノイドによる血管内皮細胞や肝星細胞におけるプラスミノゲン活性化因子（PA）遺伝子の発現促進には、“RARが転写因子Sp1のC末領域（DNA結合ドメインを含む）と物理的に相互作用し、Sp1の標的配列への結合能を顕著に増大する結果、Sp1による転写活性化を促進する”という転写因子間の物理的相互作用を介した新規転写制御機構が機能していることを見出した。また、その生物学的意義として、PA遺伝子の発現促進を引き金として展開するPA/プラスミン/TGF- β 系が血管形成の阻害、並びに肝臓の線維化促進に働くことを見出した。これらの研究成果は、非常に複雑なレチノイドの作用機序を解明する上で重要な知見として高く評価されるものである。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。