

受賞者

高橋 智 筑波大学 大学院人間総合科学研究科

研究テーマ

細胞分化における大Maf群転写因子MafA、MafBの機能解析

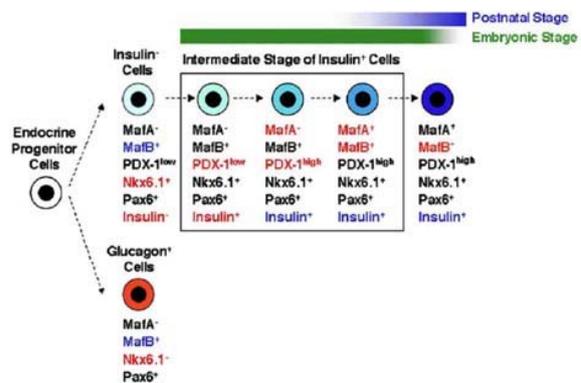
1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

Large Maf転写因子は、日本で発見されたがん遺伝子の細胞性ホモログで、b-ZIP型転写因子群ファミリーに属し、Maf認識配列 (MARE) に結合する転写因子である。マウスおよびヒトでは、MafA、MafB、c-Maf、Nr1の4種類存在することが、ゲノムプロジェクトにより明らかにされている。これまでの研究で、大Maf群転写因子は様々な臓器における機能発現に重要であり、疾患の発症と関連していることが強く示唆されるが、その全容は、殆ど明らかにされていない。そこで本研究では、既に作製された遺伝子改変マウスを用いて、大Maf群転写因子機能の全容を明らかにし、疾患発症との関連解明を目標とした。特に以下に記述する膵臓の内分泌細胞の機能分化と、マクロファージにおける機能解析を中心に行った。

2. 方法

1) 膵臓内分泌細胞分化における大Maf群転写因子の機能解析

膵臓の内分泌細胞は、転写因子Neurogenin3 (Ngn3) 陽性の細胞から発生することが明らかにされているが、その後の解析により、Ngn3陽性の細胞からMafB陽性の細胞が形成され、その中からMafA陽性の細胞集団が発生して、最終的にインシュリンを産生する機能的な・細胞が形成されること、MafBを持続的に発現する細胞がグルカゴン産生の・細胞の分化することが予想されているが、まだ機能的な証明がなされていない。本研究では、膵臓の・細胞および・細胞の分化における大Maf群転写因子の機能解析を、MafAの単独欠損 (A0B2)、MafBの単独欠損 (A2B0)、さらにはMafAとMafBの二重欠損 (A0B0) マウスを用いて解析した。



2) 動脈硬化でのMafBの役割

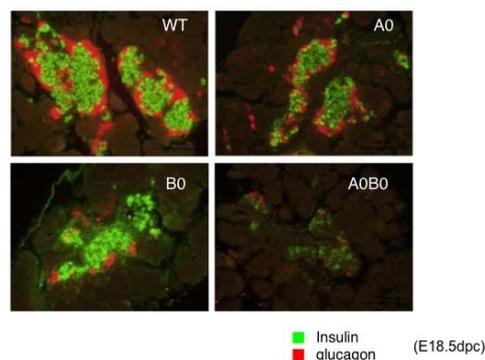
私達は、マクロファージにおけるMafBの機能を網羅的に調べるために、MafB欠損マウスと野生型マウスの胎児肝マクロファージを用い、マイクロアレイ解析を行った。その結果、AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) の発現が顕著に減少していることを見いだした。AIMはスカベンジャーレセプターファミリーに属する分子で、マクロファージのアポトーシスを抑制する機能をもつことが知られている。AIM欠損マウスを、動脈硬化を自然発症するマウス系統と交配すると、動脈硬化の原因となる酸化LDLを取り込んだマクロファージ(泡沫細胞)でAIM欠損の影響によりアポトーシスが促進されるため、動脈硬化が改善することが報告されている (Arai S et al., 2005)。そこで、MafBとAIMとの関連を解析したところ、MafBが動脈硬化病巣で発現していること、MafB欠損マクロファージはAIM

の発現が減少し、アポトーシス感受性であることが明らかとなった。本研究では、AIMの発現調節機構を解析するとともに、動脈硬化病変形成におけるMafBの機能を解明するために、MafB欠損マウスの胎児肝の造血幹細胞を、動脈硬化を自然発症するLDLR^{-/-}へ移植し、動脈硬化病変が改善されるかどうかを検討した。

3. 結果 研究成果

1) 膵臓内分泌細胞分化における大Maf群転写因子の機能解析

膵臓の・および・細胞の分化におけるMafAの単独欠損 (A0B2)、MafBの単独欠損 (A2B0)、さらにはMafAとMafBの二重欠損 (A0B0) の影響を、それぞれの遺伝子欠損マウスを用いて胎生18.5日で解析したところ、MafA単独欠損マウスでは・および・細胞の数は野生型のマウスと比較して変化は無かった。一方MafBの欠損マウスでは、・および・細胞は野生型の半分以下に減少していた。MafAとMafBの二重欠損マウスでは、・および・細胞数はMafBの欠損マウスと同様の減少を示したが、インシュリンの転写量は野生型マウスの5%以下にまで低下していた。



MafA/MafB二重欠損マウスに見られる α 、 β 細胞の減少

2) 動脈硬化でのMafBの役割

AIMの発現調節機構を解析するために、AIMのプロモーター解析を行ったところ、転写開始点の54bp上流に典型的なMaf認識配列 (MARE) が様々な生物種で保存されていることを明らかにした。AIMのプロモーター領域を用いたレポーター解析で、このMAREがAIMのMaf依存的な転写活性化に必須であることを明らかにした。次に、MafBの欠損によりAIMの発現誘導が抑制され、動脈病変の形成が抑制されるかを検討するため、MafB欠損マウスの胎児肝の造血幹細胞を、動脈硬化を自然発症するLDLR^{-/-}マウスへ移植し、動脈硬化病変が改善されるかどうかを検討した。その結果、MafB欠損マウスの胎児肝の造血幹細胞を移植したLDLR^{-/-}マウスでは、野生型の細胞を移植したマウスに比べ、有為な動脈硬化病変の形成が抑制されていることが明らかとなった。

4. 考察 まとめ

本研究により、大Maf群転写因子のMafAおよびMafBは膵臓の・および・細胞の分化とインシュリンの転写に必須の因子であることが証明された。この結果から、MafAやMafBの発現を人為的に調節することにより、・および・細胞の分化を制御できる可能性があるものと考えられる。

一方、動脈硬化病変形成におけるMafBの機能を解析したところ、MafB欠損マウスの血液幹細胞を移植したLDLR^{-/-}マウスでは、動脈硬化病変の形成が抑制された。このことから、動脈硬化の初期病変異見られる泡沫細胞にMafBが発現しており、その発現によって細胞死抑制因子であるAIMが発現誘導

され、泡沫細胞の細胞死が抑制されることにより動脈硬化病変が拡大することが明らかとなった。マクロファージにおけるMafBの発現を制御することにより、動脈硬化病変形成を抑制できる可能性が示唆された。

5. 発表論文、参考文献

1. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi S, Morito N, Nakano T, Ojima M, Shimohata H, Itoh K, **Takahashi S**, Yamamoto M. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2 deficient mice. *Genes Cells*. 13, 1159-1170, 2008.
2. Ema M, Mori D, Niwa H, Hasegawa Y, Yamanaka Y, Hitoshi S, Mimura J, Kawabe Y, Hosoya T, Morita M, Shimosato D, Uchida K, Suzuki N, Yanagisawa J, Sogawa K, Rossant J, Yamamoto M, **Takahashi S**, Fujii-Kuriyama Y. Krüppel-like factor 5 is essential for blastocyst development and the normal self-renewal of mouse ESCs. *Cell Stem Cell*. 3, 555-567, 2008.
3. Sultana DA, Tomita S, Hamada M, Iwanaga Y, Kitahama Y, Khang NV, Hirai S, Nitta S, Amagai T, **Takahashi S**, Takahama Y. Gene expression profile of third pharyngeal pouch reveals the role of mesenchymal MafB in embryonic thymus development. *Blood*. in press.