

審査の結果の要旨

氏名 花井 順一

本研究は、共に多彩な機能を有する転写因子群である Smad と Polyomavirus enhancer binding protein2 (PEBP2) との協調作用の解析を試みたものである。Smad は Transforming growth factor- β (TGF- β) スーパーファミリーのシグナル伝達因子であり、他の転写因子と協調して標的遺伝子の転写を調節することが明らかにされつつある。一方、PEBP2 は、骨形成、造血、IgA クラススイッチングにおいて重要な機能を有する転写因子群である。両者に重複する機能が認められることから、その協調作用を解析し、下記の結果を得ている。

1. PEBP2 の3種の α subunit (αA , αB , αC) は、それぞれ特異型 Smad (Smad1, 5, 2, 3) と結合することが示された。特異型-Smad、共有型 Smad、PEBP2 α の3者による複合体は、ligand 刺激依存的に出現した。結合部位は Smad の MH2 ドメイン、PEBP2 α 側は複数認められた。

2. IgA クラススイッチングを調節している germline IgC α プロモーター領域には TGF- β -responsive element (T β RE) が含まれており、さらにその部位には2つの Smad binding motif および、2つの PEBP2 α binding site が認められる。このプロモーターを用いて Smad3 と PEBP2 αC の機能的連関を検討すると、ligand 刺激で誘導される転写活性化が αC の存在下で著しく増強し、Smad3 および PEBP2 αC の各結合部位に変異を導入すると転写活性化は著しく減弱し、T β RE を介して同プロモーターが活性化することが示された。さらに、ligand 刺激による転写活性化は、Smad3 の dominant negative form により阻害された。

3. T β RE を probe としたゲル・シフト法による解析により、T β RE に単独で結合する Smad3、PEBP2 αC が認められた。両者はまた共存すると複合体を形成して T β RE に結合した。probe 側の各結合部位に変異を導入すると、Smad3/PEBP2 αC 複合体、および変異部位に相当する蛋白の結合が消失した、以上から双方の結合モチーフが各蛋白の DNA との結合において特異的であり、かつ必要であること、Smad3/ αC による複合体の DNA 結合および転写活性化においては双方の結合モチーフが必要であることが示された。

以上、本研究は Smad と PEBP2 が、その重複する機能である IgA クラススイッチングにおいて、協調して働いていることを明らかにした。共に多彩な生理活性を有する転写因子群同士の協調作用を示した点で重要であり、Smad と PEBP2 の協調作用により TGF- β /BMP のシグナルが調節されている可能性を示唆している。さらに臨床的にも IgA 腎症の病態解明につながる意義があり、学位の授与に値するものと考えられる。