

論文内容の要旨

申請者氏名 宮井 雅史

哺乳類の皮膚組織（表皮および毛包）は、秩序ある多層構造をとり、生涯にわたって再生・維持されるが、その制御機構には不明な点が多い。本論文では、細胞分化と関連の深い転写調節因子 MafB による遺伝子発現制御の観点から、皮膚系組織の形成の分子メカニズムの解明を行い、以下の知見を得た。

まずマウスの毛包において、毛幹を支持する内根鞘の 3 つの角化細胞層のうち、外側のヘンレ層で MafB が発現していることを見出した。さらに、*mafB* および *c-maf*（ハクスレー層で発現）の遺伝子破壊マウス（*mafB*^{-/-}、*c-maf*^{-/-}）の髭の微細形態を観察し、MafB と c-Maf が毛幹表面のキューティクルのパターン形成に必須であることを示した。

一方、マウス表皮で MafB が、未分化な基底層細胞から有棘層細胞への分化段階で発現することを明らかにした。さらに、*mafB*^{-/-}マウスの表皮の機能、形態、マーカータンパク質の発現、遺伝子発現などを詳細に調べたところ、後期角化関連構造タンパク質である Involucrin、Loricrin の発現は正常であり、cornified envelope の形成や物理的バリア機能は正常であった。しかしながら、最外層の角質層が著しく減少し、かつ、角化細胞の初期分化マーカーKeratin1 (K1) と K10 や、角質層の形成に重要な Profilaggrin の発現が減少していた。さらに、本来は未分化な基底層細胞でのみ発現する K14 が消失せず持続発現していた。従って、MafB は角化細胞の初期分化段階を正に制御していると考えられた。

次に、基底層で発現する K14 プロモーター制御下で *mafB* を異所的に発現させる遺伝子導入マウス（*mafB* Tg）を作成したところ、生後 8 日目前後で背側皮膚などに鱗屑を伴う皮膚症状を呈した。角質層の過形成と表皮肥厚、基底層での増殖マーカーPCNA の発現増加が見られ、正常皮膚では発現しない炎症関連ケラチン K6、K16、K17 の発現が観察された。以上の結果から、*mafB* Tg では基底層細胞の細胞分裂と有棘層細胞への分化が亢進し、その結果、乾癬様症状を呈すると考えられた。

さらに表皮におけるマイクロアレイ解析を行い、*mafB*^{-/-}の表皮では脂質代謝系酵素群の発現が亢進していることを見だし、脂質系遺伝子発現を制御する転写因子 Klf4 や Get1 と MafB との関連を調べたところ、Klf4 と Get1 は MafB に結合し、その転写活性を抑制することを明らかにした。

以上の解析から、毛幹の形態形成における MafB と c-Maf の機能が明らかになった。表皮においては、MafB が構造タンパク質遺伝子群の制御を通じて、未分化な基底層細胞から有棘層細胞への分化を進行させ、また、Klf4 や Get1 と物理的・機能的に拮抗してバランスよく遺伝子発現を調節することによって表皮角化細胞の成熟の時間的・空間的秩序を支えるという新規な表皮形成メカニズムを見出した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 宮井 雅史

表皮および毛包は、多層化した角化細胞から成り立っており、生涯にわたって秩序ある分化と再生を持続する組織であることから、その制御の分子メカニズムは学術的にも興味深く、また、その破綻はさまざまな皮膚疾患を引き起こすことから、医学的にも解明が急がれる。本研究では、皮膚以外の組織における細胞分化（マクロファージなど）における役割が解明されつつある転写制御因子 MafB に注目し、遺伝子改変マウスを用いてその皮膚系角化細胞における役割を解析した。

まず、毛包の内根鞘での MafB 発現部位を厳密に特定し、遺伝子破壊マウスの微細形態観察から、MafB および関連因子 c-Maf が毛幹の形態形成に必須の役割を果たすこと、および、詳しい機能が不明だった内根鞘各層の役割を初めてあきらかにした。

また、MafB は表皮角化細胞の初期分化段階で発現することを、分化関連マーカー K5/14, K1/10 との免疫共染色によりあきらかにした。さらに MafB 欠損マウスの表皮を正常マウスと比較しつつ、組織解析、免疫組織染色、タンパク質発現、遺伝子発現などにより多面的に解析を行い、MafB が、初期分化関連構造タンパク質（フィラグリンやトランスグルタミナーゼなど）の遺伝子発現を通じて、表皮角化細胞の初期分化（基底層細胞から有棘層細胞への分化）を正に制御していることを突き止めた。また、詳細な遺伝子発現プロファイルの解析から、MafB が表皮構造関連タンパク質群の遺伝子発現を正に制御するのみならず、皮膚のバリア機能獲得にとって同じく重要な脂質代謝関連酵素遺伝子群の発現を、負に制御することを発見した。さらに、脂質代謝系遺伝子発現に関連することがわかっていた転写因子 Klf4, Get1 に注目し、MafB はこれらの2因子と物理的、機能的に相互作用することで、互いに拮抗的にはたらくことを見いだした。これら一連の発見は、表皮角化細胞の分化が、複雑な転写制御ネットワークによって時空間的に厳密に制御されていることを示唆するものであり、その分子機構の一端をあきらかにした点で意義深い。

一方で、MafB を過剰に発現する遺伝子導入マウスを作製することにより、MafB は未分化な基底層細胞で発現すると、過増殖を伴う乾癬様症状を引き起こすことを、組織解析や各種マーカータンパク質の発現によってあきらかにし、MafB の制御の破綻が皮膚組織の維持に与える病理的意義をはじめて示した。

以上のように、本論文は、皮膚系角化細胞の分化と再生・維持の分子メカニズムの一端を転写制御の側面から解明したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。