

なモデルになると期待できる。

- 1) Kurokawa, H., Saito, D., Nakamura, S., Katoh-Fukui, Y., Ohta, K., Baba, T., Morohashi, K., & Tanaka, M. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 16958–16963.
- 2) Morinaga, C., Saito, D., Nakamura, S., Sasaki, T., Asakawa, S., Shimizu, N., Mitani, H., Furutani-Seiki, M., Tanaka, M., & Kondoh, H. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 9691–9696.
- 3) Nakamura, S., Kobayashi, K., Nishimura, T., Higashijima, S., & Tanaka, M. (2010) *Science*, **328**, 1561–1563.
- 4) Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S., & Sakaizumi, M. (2002) *Nature*, **417**, 559–563.
- 5) Nanda, I., Kondo, M., Hornung, U., Asakawa, S., Winkler, C., Shimizu, A., Shan, Z.H., Haaf, T., Shimizu, N., Shima, A., Schmid, M., & Scharlt, M. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 11778–11783.
- 6) Saito, D., Morinaga, C., Aoki, Y., Nakamura, S., Mitani, H., Furutani-Seiki, M., Kondoh, H., & Tanaka, M. (2007) *Dev. Biol.*, **310**, 280–290.
- 7) Kurokawa, H., Aoki, Y., Nakamura, S., Ebe, Y., Kobayashi, D., & Tanaka, M. (2006) *Dev. Growth Differ.*, **48**, 209–221.
- 8) Nakamura, S., Kobayashi, D., Aoki, Y., Yokoi, H., Ebe, Y., Wittbrodt, J., & Tanaka, M. (2006) *Dev. Biol.*, **295**, 678–688.
- 9) Nakamura, S., Kurokawa, H., Asakawa, S., Shimizu, N., & Tanaka, M. (2009) *Dev. Dyn.*, **238**, 2652–2657.
- 10) Nakamura, S., Aoki, Y., Saito, D., Kuroki, Y., Fujiyama, A., Naruse, K., & Tanaka, M. (2008) *Mol. Reprod. Dev.*, **75**, 472–476.
- 11) Aoki, Y., Nakamura, S., Ishikawa, Y., & Tanaka, M. (2009) *Zool. Sci.*, **26**, 112–118.
- 12) Yamamoto, T. (1958) *J. Exp. Zool.*, **137**, 227–263.
- 13) Yoshizaki, G., Ichikawa, M., Hayashi, M., Iwasaki, Y., Miwa, M., Shikina, S., & Okutsu, T. (2010) *Development*, **137**, 1227–1230.
- 14) Okutsu, T., Suzuki, K., Takeuchi, Y., Takeuchi, T., & Yoshizaki, G. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 2725–2729.

中村 修平¹, 小林 佳代¹, 西村 俊哉^{1,2},
田中 実^{1,2}

¹ 基礎生物学研究所生殖遺伝学研究室

² 総合研究大学院大学生命科学研究科
基礎生物学専攻)

Germline stem cells and sex differentiation in medaka (*Oryzias latipes*)

Shuhei Nakamura¹, Kayo Kobayashi¹, Toshiya Nishimura^{1,2} and Minoru Tanaka^{1,2} (¹Laboratory of Molecular Genetics for Reproduction, National Institute for Basic Biology, 5-1 Higashiyama, Myodaiji, Okazaki, Aichi 444-8787, Japan; ²Department of Basic Biology, School of Life Science, Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI), 38 Nishigonaka, Myodaiji, Okazaki, Aichi 444-8585, Japan)

転写因子クロスカップリングを介した内毒素によるアクアポリン5の発現抑制

1. はじめに

本稿では水チャネル、アクアポリン (AQP) に関して、特にその機能が注目される数分子にふれた後、外分泌腺型 AQP である AQP5 について、最近明らかにした内毒素による発現制御機構について述べる。

2. 水チャネル、アクアポリン

生体において必須である水代謝に深くかかわる AQP は、セルペンチン型膜タンパク質の水チャネルで、微生物から動植物まで生物界に広く分布する。最初の AQP は 1992 年、CHIP28 (channel forming integral protein 28) の名称で Agre らのグループにより赤血球からはじめてクローニングされた¹⁾。その後、Sasaki らのグループは第 2 番目の AQP, AQP2 を腎臓よりクローニングした²⁾。Fujiyoshi らのグループは、AQP1 分子の X 線結晶解析に成功し、その分子構造の全容を明らかにした³⁾。現在、哺乳類の AQP ファミリーには 13 分子種 (AQP0–12) が存在することが明らかにされている。また、今のところ、AQP による生体膜を隔てた水移動は、単純に浸透圧勾配依存的に行われると考えられている。このチャネル分子の特徴は、(1) 細胞膜 6 回貫通型でタンデムリピート構造をとる。通常四量体で存在する。(2) 分子の 2 箇所ファミリー間で保存された Asp-Pro-Ala 配列 (NPA モチーフ) が存在し、ヘミチャネル構造をとる。ヘミチャネルは細胞内外から互いに向き合い、水分子の通路を形成する。(3) AQP 分子中にはグリコシレーション部位の他、リン酸化モチーフが存在し、機能調節に関与している。(4) AQP3, 7, 9, 10 はグリセロールも通過させる (アクアグリセロポリン) 一などである。最近では、AQP ファミリーの分子は水以外の溶質のチャネルでもあることが明らかになっている。例えば、AQP6 がイオンを、AQP1 は CO₂ を、AQP8 は H₂O₂ を、そして多くのアクアグリセロポリン (AQP3, 7, 9) は砒素を通過させることが知られている。さらに最近では、ある種の AQP は細胞接着、細胞運動、細胞分裂にも関与していることが明らかにされている⁴⁾。主な AQP の生理機能を表 1 にまとめた。

表1 主な AQP の生理機能

AQP 分子種	主な発現組織	AQP 機能と生理作用
AQP0	眼のレンズ組織	水または浸透圧物質の輸送を調節し、レンズの含水量を調節していると考えられている。遺伝子異常により白内障を発症する。発症頻度は加齢と共に増加する。
	赤血球	役割不明
	血管内皮	KO マウスでは移植癌の発育が悪い。また KO マウスから得た内皮細胞の遊走も遅い。
AQP1	腎臓近位尿管およびヘンレ係蹄下行脚	欠損により尿の濃縮障害が現れる。
	肺 (肺胞血管内皮)	出生時、肺における羊水吸収に重要。肺水腫において欠損は保護作用がある。
AQP2	腎臓 (集合管腔側)	バソプレッシンは長期的作用によって cAMP を介して AQP2 の遺伝子発現を調節している。短期的作用によって AQP2 を結合している小胞の細胞内から管腔膜へのトラフィッキングを惹起する。
	内耳 (内リンパ嚢)	バソプレッシンあるいはその受容体の異常上昇が内耳 AQP2 のトラフィッキングなどに影響し、内リンパ水腫症 (メニエール病) となる可能性が推測されている。
AQP3	皮膚 (表皮の基底層角化細胞の細胞膜)	グリセロール輸送に関与する。正常な皮膚において、アトピー性湿疹などのストレスによってその発現が増加する。皮膚に水分を補給し弾力性を与える。欠損は創傷治癒と皮膚新生に障害をもたらす。
AQP4	脳 (毛細血管, シナプス周辺空間, ランビエ絞輪と接する星状膠細胞の終足)	脳において脳浮腫の生成と消失に関与する。星状膠細胞の AQP4 は脳虚血, 外傷, 炎症, および代謝障害に続く脳浮腫において重要な役割を演じている。細胞毒性脳浮腫は AQP4 の欠損マウスにおいては軽度で済むが, 脳脊髄液漏出による血管原性浮腫を悪化させる。
AQP5	唾液腺, 肺	本文参照。
AQP7	脂肪組織	グリセロール輸送に関与する。血清グリセロールレベルの変化と一致して脂肪組織の AQP7 mRNA は摂食時減少し, 絶食状態で上昇する。この変化は血中インスリン濃度の変化と相反する。AQP9 は肝臓へのグリセロールチャネルと考えられる。AQP7 および AQP9 の転写活性はいずれもインスリンによって負に調節されている。
AQP9	肝臓 (肝門脈に接するシノイド細胞膜)	

3. 外分泌腺型アクアポリン, AQP5

唾液腺や涙腺などの外分泌腺における水分分泌, 肺における肺胞からの水移動は, これら臓器の最も重要な生理機能の一つであり, AQP2 と相同性の高い AQP5 が組織に発現している。AQP5 をノックアウトした遺伝子改変マウスが作成され, 解析された。外見は正常に見えるが, AQP5 null マウスの出生率と成長速度はともに低い。また, コリン刺激性気管支収縮に過敏である⁵⁾。喘息患者の一定数には AQP5 の 3'UTR 領域に一塩基多型が存在し, これにより AQP5 発現が低下していることが報告されている⁶⁾。さらに, 肺の AQP5 は急性のウイルス感染によってその発現が減少する⁷⁾。ウイルス感染によって上昇する TNF- α がそのメディエーターになっていると考えられ, Towne らは培養肺上皮細胞 (MLE-12) の AQP5 に対する TNF- α の作用を *in vitro* で調べた。その結果, MLE-12 細胞の AQP5 mRNA 転写は TNF- α により抑制され, このダウンレギュ

レーションには腫瘍壊死因子受容体 1 (TNFR1) を介した NF- κ B 経路が関与していることを明らかにした⁸⁾。なお, TNFR1 を介するシグナル伝達系では MAPK 系も活性化されることが知られているが, 彼らは TNF- α による MLE-12 細胞の AQP5 mRNA 転写抑制には MAPK 系は関与しないとしている (後述)。

唾液腺では AQP5 は腺房細胞の細胞膜に発現し, この部位での水移動 (分泌) に関与する。唾液腺 (顎下腺) の AQP5 は腺を支配している鼓索神経 (副交感神経) の切除によって減少するので, 副交感神経は AQP5 レベルの維持に必要である⁹⁾。神経切除は腺房細胞のオートファジーとリソソーム系の活性化を惹起し, これらの経路を経て AQP5 が代謝・分解される¹⁰⁾。AQP5 null マウスでは唾液の分泌量の低下 (正常の 50%) と粘性の上昇が報告されている¹¹⁾。唾石症, 唾液腺炎など, 一定の病態下で唾液腺 AQP の遺伝子発現も影響される可能性がある。唾液腺からのサイトカインや水の分泌は, 外界に直接さらされている口腔の生

体防御において重要であり、唾液腺の水分泌障害は口腔衛生上も重要な問題である。実際、内毒素であるリポ多糖 (LPS) の投与により惹起した実験的炎症により、炎症性サイトカインが唾液腺において誘導され、口腔へ分泌される¹²⁾。他方、LPS は唾液分泌を抑制することが知られている。そこで、唾液腺の水チャネル AQP の発現に対する LPS の効果を調べた。その結果、LPS 投与 (*in vivo*) は Toll 様受容体 4 (TLR4) を介して耳下腺 AQP5 及び AQP1 の mRNA レベルを著しく減少させることを見出した¹³⁾。

4. LPS シグナリングとクロスカップリング

内毒素 (LPS) はグラム陰性菌の細菌細胞壁の主成分で敗血症ショック患者において広範な細胞を活性化する。LPS は自然免疫において重要な分子、TLR4 を介してサイトカインやデフェンシンなどの炎症性タンパク質を誘導する。TLR4 の細胞外ドメインへのリガンドの結合は複雑なシグナル伝達系を駆動し、最終的には転写因子、NF- κ B を活性化し、種々の炎症性タンパク質を誘導する。LPS のシグナリング経路においては NF- κ B 系はきわめて重要であるが、MAPK 経路も同時に活性化され、サイトカインなどを誘導すると考えられる。MAPKK の下流には主として化学誘導性物質や成長因子により活性化される ERK1/2、ストレスやサイトカインにより誘導される JNK および p38 MAPK の経路がある。

私たちは唾液腺において AQP5 および AQP1 が LPS により転写抑制される機構を、*in vitro* の組織培養系を用いて検討した (表 2)¹³⁾。AQP1 の LPS による転写抑制に対する NF- κ B および MAPK 経路の阻害剤の効果は認められなかった。その理由の一つとして、AQP1 プロモーターに NF- κ B 応答配列が無いことがあげられる (後述)。しかし、AQP5 の LPS による転写抑制は I- κ B キナーゼの阻害剤 PDTC とプロテアソームの阻害剤 MG132 により完全に解除された。これらの阻害剤存在下ではそれぞれ I- κ B が蓄積し、遊離 NF- κ B の生成が抑制されたためである。しかし、それだけにとどまらず、AQP5 の LPS による転写抑制は、AG126 および SP600125 などの MAPK 経路の阻害剤 (それぞれ ERK1/2 および JNK の阻害剤) によっても完全に解除された。すなわち、LPS による AQP5 の転写抑制には NF- κ B 経路と MAPK 経路の両方が関与していると考えられた。

さらに、この実験から明らかになったもう一つの事実は、JNK の作用によりリン酸化され生じる p-c-Jun (リン酸化 c-Jun) および ERK1/2 によりリン酸化され生じる p-c-

表 2 耳下腺 AQP5/AQP1 mRNA の LPS による転写抑制 (*in vitro*) に対するシグナル伝達阻害剤の影響

シグナリング経路	阻害剤	作用点	LPS による転写抑制の解除	
			AQP5	AQP1
NF- κ B	PDTC	I- κ B キナーゼ	++	-
	MG132	プロテアソーム	++	-
MAPK	AG126	ERK1/2	++	+
	SP600125	JNK	++	+
	SB203580	p38 MAPK	+	-

++, ほぼ 100% の抑制解除; +, 約 50% の抑制解除; -, 抑制解除せず。

マウス耳下腺組織をレンズペーパー法に従い、199 培地中で組織培養した。培養開始直後に各種阻害剤を添加し、1 時間後に LPS を添加した。LPS を添加後、6 時間培養し、総 RNA を抽出した。AQP5 および AQP1 mRNA レベルをリアルタイム RT-PCR により測定した。PDTC および AG126, 100 μ M; MG132, SB203580 および SP600125, 20 μ M; LPS (*E. coli*), 1 μ g/ml。

Fos (リン酸化 c-Fos) ならびに NF- κ B の 3 分子のいずれの転写因子の生成を抑制しても LPS による AQP5 の転写抑制が完全に解除されたことである。すなわち、LPS による AQP5 の転写抑制にはこの 3 分子がそろって必要であると考えられた。この説明として、私たちは、p-c-Jun, p-c-Fos および NF- κ B の 3 分子が複合体を形成し AQP5 プロモーターに結合することが AQP5 転写抑制に必要であると考えた (図 1B)。そこでこの可能性を、転写因子抗体を用いた免疫沈降を行うことによって検討した。LPS 投与 (*in vivo*) 3 時間後の耳下腺抽出液を NF- κ B (p65), p-c-Jun, および p-c-Fos のそれぞれに対する抗体のカラムと反応させた。吸着したタンパク質を溶出させ、抗 p-c-Jun 抗体で検出したところ、図 1A に示すように、いずれの抗体カラムからも p-c-Jun が溶出した。また、LPS 刺激前の耳下腺抽出液を各抗体カラムに反応させた場合、刺激後のサンプルに比べて少量の p-c-Jun を抗 p-c-Jun 抗体カラムおよび抗 p-c-Fos 抗体カラムの溶出液中に検出したが、抗 NF- κ B 抗体カラムの溶出液中には p-c-Jun を検出しなかった。これらの結果から、耳下腺においては非刺激時、一定量の p-c-Jun および p-c-Fos が存在するが、p-c-Jun と結合している NF- κ B (p65) はほとんど存在しないこと、そして LPS 刺激によってこれら 3 種の転写因子の複合体が観察されるようになるなどが明らかとなった。

なお、マウス AQP5 プロモーターには NF- κ B 応答配列

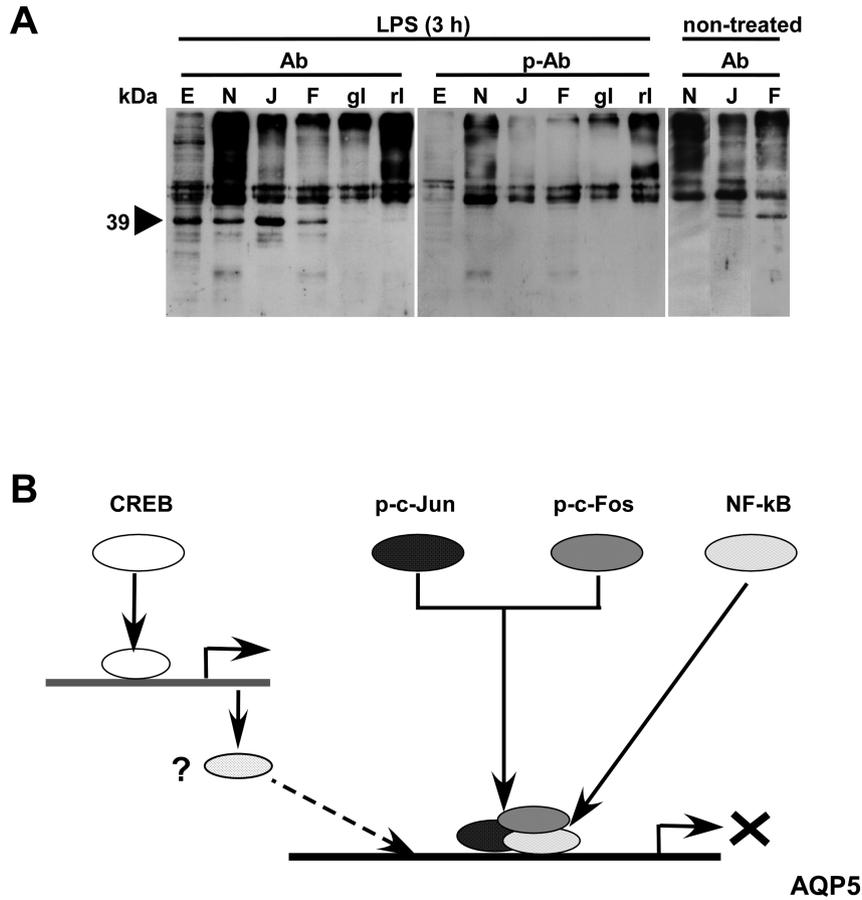


図1 p-c-Jun と NF-κB および p-c-Fos との複合体形成
A. 免疫沈降実験. 無処置マウスおよび LPS 投与 3 時間後のマウスより調製した耳下腺抽出液を, ウサギ抗 NF-κB 抗体, ウサギ抗 p-c-Jun 抗体, ヤギ抗 p-c-Fos 抗体を固定化したセファロースゲルと反応させ, 洗浄後吸着したタンパク質を溶出した (それぞれ, N, J, F のレーン). gl, rl はそれぞれ正常ヤギ IgG および正常家ウサギ IgG を固定化したセファロースゲルからの溶出液. 抽出液 (E) および各セファロースゲルからの溶出液を SDS-PAGE 後, 抗 p-c-Jun 抗体で検出した. **Ab**, 抗 p-c-Jun 抗体; **p-Ab**, ペプチド吸収 p-c-Jun 抗体. 矢頭, p-c-Jun の泳動位置. **B.** A. の結果より考えられる模式図. p-c-Jun と NF-κB および p-c-Fos の複合体が AQP5 プロモーターの NF-κB 結合配列に結合すると考えられる. この実験系での CREB の機能は明らかではない. (文献 13 より改変)

および AP-1 結合配列がそれぞれ 2 箇所存在し, LPS 投与により耳下腺抽出液中の 2 種の NF-κB 応答配列への結合が上昇することがゲルシフトアッセイ (EMSA) により確認された (図 2). しかし, LPS 投与による AP-1 結合配列への結合の上昇は認められなかった. LPS により誘導された p-c-Jun および p-c-Fos の大部分が NF-κB と複合体を形成し, 複合体は AP-1 結合配列よりも NF-κB 応答配列へ優先的に結合した可能性が考えられた. また, 耳下腺の ERK1/2 のリン酸化 (p-ERK1/2 は c-Fos をリン酸化し活性化する), c-Jun のリン酸化 (活性型の p-c-Jun が生成する)

はいずれも LPS により活性化され, それぞれの阻害剤, AG126 および SP600125 により共に阻害された. また NF-κB, p65 および p50 サブユニットの核への移行も LPS により促進され, 阻害剤 PDTC と MG132 によって抑制されたので, LPS による上記転写因子活性化経路が耳下腺において機能していることが確認された.

Schüle らは *c-fos*, *c-jun* 遺伝子をラット骨芽細胞様細胞, ROS17/2.8 細胞に遺伝子導入し Jun/Fos 複合体を発現させると, 非誘導時およびビタミン誘導時, の両条件下でオステオカルシン転写抑制が起こることを報告した. これらの

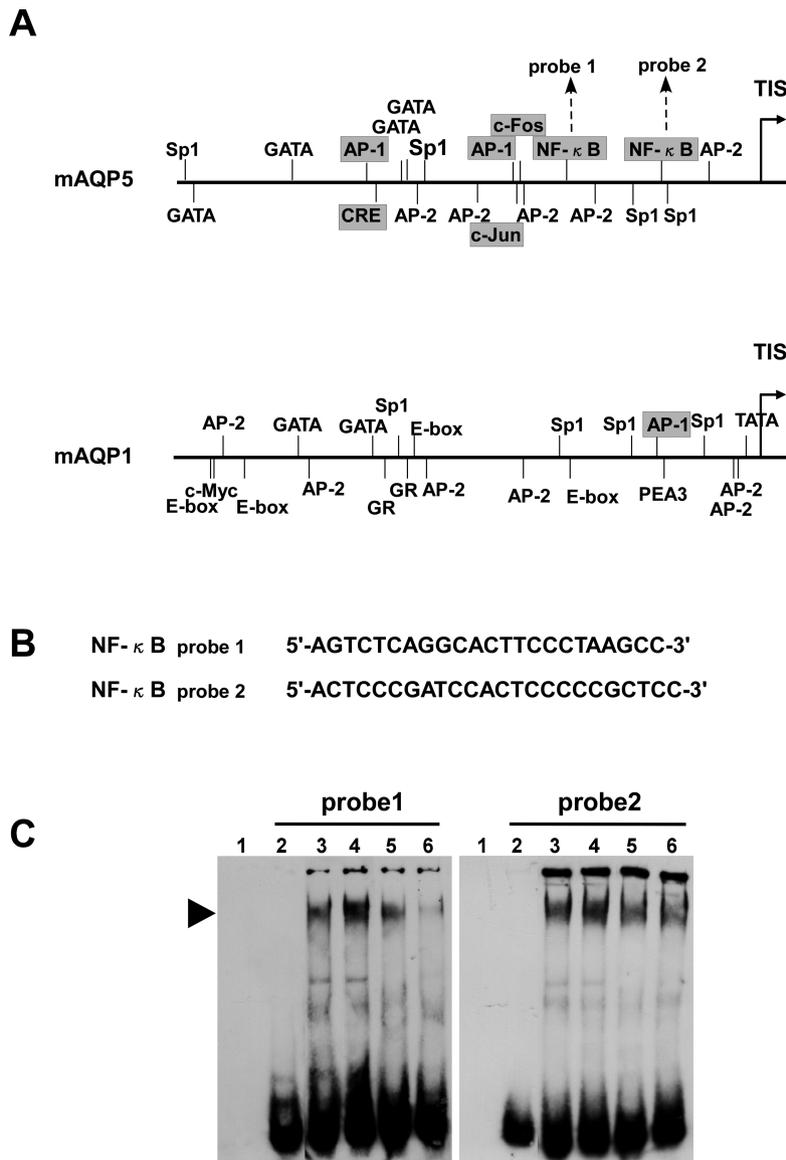


図2 マウス AQP5 および AQP1 のプロモーターと EMSA

A. マウス AQP5 および AQP1 のプロモーター領域の構造. TIS, 転写開始部位. AP-1, c-Fos, c-Jun, NF- κ B, 及び CRE の応答配列部位をグレイハイライトで示した. **B.** EMSA (C) で用いたプローブのヌクレオチド配列. probe 1 は mAQP5 プロモーターの上流にある NF- κ B 応答配列, probe 2 は同, 下流の NF- κ B 応答配列. **C.** EMSA. LPS 投与 1 時間後のマウスより得た耳下腺抽出液を用いて DNA 結合実験を行った. 1, プローブ無添加; 2-6, プローブ添加. 2, 抽出液無添加; 3, 無処置マウス耳下腺抽出液; 4, LPS 投与耳下腺抽出液; 5, LPS 投与耳下腺抽出液 + 50 倍濃度の非標識プローブ添加; 6, LPS 投与耳下腺抽出液 + 抗 NF- κ B p65 抗体. (文献 13 より改変)

現象に対してクロスカップリングの名称が提案された¹⁴⁾. Stein¹⁵⁾は, NF- κ B 応答配列を有する HIV-1 の LTR プロモーター活性を CAT レポーターアッセイにより調べ, こ

のレポーター遺伝子と *c-fos*, *c-jun* の遺伝子を HeLa 細胞にコトランスフェクションすると LTR の転写活性が著しく増強されることを見出した (NF- κ B 応答配列に変異を

導入した場合には転写活性は増強されなかった)。NF- κ B と AP-1 ファミリー転写因子、p-c-Fos/p-c-Jun は物理的に会合し、DNA 結合能および生物活性をともに上昇させ、相乗的活性化を示すことが証明された。すなわちこれらの異なるクラスの転写因子間でクロスカップリングが存在することが明らかになった。

私たちは、LPS シグナリングの結果、NF- κ B と AP-1 の複合体形成とそれによる強力な転写制御（転写抑制）が実際の生体で起こることを耳下腺の AQP5 を例にあげ示した¹³⁾。また、この場合、LPS シグナリング経路における MAPK 経路の果たす役割は、活性化された p-c-Fos/p-c-Jun (AP-1) が、同時に活性化される NF- κ B に結合し、NF- κ B の機能を増強することにあると考えられた。他方、内毒素の作用により、AQP5 の転写が強力に抑制されたため唾液腺において唾液分泌能が減少すると考えられた。前述のように肺では同じ AQP5 mRNA が TNF- α により NF- κ B 経路を介して転写抑制され、肺浮腫を起こすが、この場合、MAPK 経路は関与しない⁸⁾。一方、末梢血単核細胞において TNF- α 、IL-1 β 、あるいはホルボールエステル (PMA) などの刺激により、AP-1 ならびに NF- κ B の DNA への結合は上昇するが、これらサイトカインや PMA と同時にデキサメタゾンを投与すると、これら転写因子 (AP-1 および NF- κ B) はステロイド受容体と複合体を形成し、AP-1 ならびに NF- κ B 転写因子の DNA への結合が抑制される¹⁶⁾。内毒素やサイトカインにより活性化される転写因子とグルココルチコイド受容体はそれぞれの役割を独立して発揮すると共にクロスカップリングにより AP-1 や NF- κ B の作用を抑制できる¹⁷⁾。これら核受容体に依存した転写抑制経路は炎症関連遺伝子発現の開始、大きさ、継続時間を制御し薬理的処置を実現できる可能性がある¹⁸⁾。

5. おわりに

本稿では、LPS のシグナリングの結果活性化される数種の転写因子が会合し、転写制御を行う実例を耳下腺の AQP5 において示した。NF- κ B による遺伝子発現制御は TLR4 を介した LPS シグナリングの場合、Jun/Fos (AP-1) が相乗的に NF- κ B の機能を増強すると考えられた。AP-1 および NF- κ B は多くの組織・細胞に発現しているため、基本的に NF- κ B 応答配列を有する遺伝子が発現していれば、LPS は TLR4 を介してこの遺伝子の強力な発現制御を行うと考えられる。なお、外分泌腺型水チャネル、AQP5 が LPS により負に制御されることの生理的意義については今後検討する必要がある。

謝辞

稿を終えるにあたり、貴重なご意見を頂いた吉本勝彦教授（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部生体システム栄養科学部門 摂食機能制御学講座 分子薬理学分野）に深謝いたします。

- 1) Preston, G.M., Carroll, T.P., Guggino, W.B., & Agre, P. (1992) *Science*, 256, 385–387.
- 2) Fushimi, K., Uchida, S., Hara, Y., Hirata, Y., Marumo, F., & Sasaki, S. (1993) *Nature*, 361, 549–552.
- 3) Murata, K., Mitsuoka, K., Hirai, T., Walz, T., Agre, P., Heymann, J.B., Engel, A., & Fujiyoshi, Y. (2000) *Nature*, 407, 599–605.
- 4) Ishibashi, K., Koike, S., Kondo, S., Hara, S., & Tanaka, Y. (2009) *J. Med. Invest.*, 56 (Suppl.), 312–317.
- 5) Krane, C.M., Fortner, C.N., Hand, A.R., McGraw, D.W., Lorenz, J.N., Wert, S.E., Towne, J.E., Paul, R.J., Whitsett, J.A., & Menon, A.G. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98, 14114–14119.
- 6) Krane, C.M., Zimmerman, S.L., Staton, A., Azmeh, R., & Moredock, K. (2007) The 5th International Conference of Aquaporin, Exploring new functions of aquaporin, Program and Abstract Book., pp. 58–59.
- 7) Towne, J.E., Harrod, K.S., Krane, C.M., & Menon, A.G. (2000) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 22, 34–44.
- 8) Towne, J.E., Krane, C.M., Bachurski, C.J., & Menon, A.G. (2001) *J. Biol. Chem.*, 276, 18657–18664.
- 9) Li, X., Azlina, A., Karabasil, M. R., Purwanti, N., Hasegawa, T., Yao, C., Akamatsu, T., & Hosoi, K. (2008) *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.*, 295, G112–G123.
- 10) Azlina, A., Javkhan, P., Hiroshima, Y., Hasegawa, T., Yao, C., Akamatsu, T., & Hosoi, K. (2010) *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.*, 299, G1106–G1117.
- 11) Ma, T., Song, Y., Gillespie, A., Carlson, E.J., Epstein, C.J., & Verkman, A.S. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 20071–20074.
- 12) Yao, C., Li, X., Murdiastuti, K., Kosugi-Tanaka, C., Akamatsu, T., Kanamori, N., & Hosoi, K. (2005) *Immunology*, 116, 213–222.
- 13) Yao, C., Purwanti, N., Karabasil, M.R., Azlina, A., Javkhan, P., Hasegawa, T., Akamatsu, T., Hosoi, T., Ozawa, K., & Hosoi, K. (2010) *Am. J. Pathol.*, 177, 724–734.
- 14) Schüle, R., Umesono, K., Mangelsdorf, D.J., Bolado, J., Pike, J.W., & Evans, R.M. (1990) *Cell*, 61, 497–504.
- 15) Stein, B., Baldwin, A.S. Jr, Ballard, D.W., Greene, W.C., Angel, P., & Herrlich, P. (1993) *EMBO J.*, 12, 3879–3891.
- 16) Adcock, I.M., Brown, C.R., Gelder, C.M., Shirasaki, H., Peters, M.J., & Andbarne, P.J. (1995) *Am. J. Physiol.*, 268 (Cell Physiol.), 37, C331–C338.
- 17) Refojo, D., Liberman, A.C., Holsboer, F., & Arzt, E. (2001) *Immunol. Cell Biol.*, 79, 385–394.
- 18) Glass, C.K. & Saijo, K. (2010) *Nature Rev. Immunol.*, 10, 365–376.

細井 和雄, 姚 陳娟
 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
 生体システム栄養科学部門摂食機能制御学講座
 口腔分子生理学分野)

Suppression of aquaporin 5 gene expression by endotoxin via cross-coupling of transcription factors

Kazuo Hosoi and Chenjuan Yao (Department of Molecular Oral Physiology, Subdivision of Stomatology, Division of Biosystem and Nutritional Science, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, 3-18-15, Kuramoto-cho, Tokushima-shi, Tokushima 770-8504, Japan)

Current address of C.Y.: Departments of Medicine & Physiology, 1246 Health Sciences East Tower, University of California San Francisco, San Francisco, CA 94143-0521, USA (for study leave)

メンデルの法則における不完全優性と植物の遺伝子量効果

1. はじめに

F1 雑種が両親の表現型の中間の表現型を示し、メンデルの法則の一種の例外とも考えられる不完全優性 (incomplete dominance) は、しばしば花の色を例にして記述されている。例えば、Thomas Hunt Morgan (1926) の古典的な遺伝学の教科書¹⁾では、赤色花と白色花のオシロイバナの F1 雑種は桃色花をつけ、その自家受粉した次の世代では赤色花：桃色花：白色花が 1：2：1 の割合で分離する例が記述されている。James D. Watson らの教科書²⁾でもキンギョソウの花の色での同様の記述があり、日本の高校の教科書では、1935 年に今井喜孝らが最初に記述して以来、主にマルバアサガオの例^{3,4)}が記載されている (図 1)。ここで記述されたキンギョソウやマルバアサガオでも、変異により白色花を賦与する花の色に係わる遺伝子に関して、赤色花の野生型と白色花の変異型のヘテロの場合は中間色の桃色花をつけるが、これらの現象の分子機構には不明な点が多い。

オシロイバナの花の色素は花の主要色素であるアントシアニンではなく、生合成系路も未解明の点が多いバタレイン⁵⁾であり、不完全優性に係わる変異も全く解明されていない。キンギョソウの場合も、アントシアニン色素生合

成系⁵⁾遺伝子の中で、後述の *CHS* (*chalcone synthase*) 遺伝子の半優性 (semidominant) 変異の場合以外に、*F3H* (*flavonoid 3-hydroxylase*) 遺伝子の劣性 (recessive) 変異との関連も示唆されているが⁶⁾、後者の詳細は不明である。マルバアサガオでは、不完全優性に係わる白色花変異は *CHS* 遺伝子内に DNA 型トランスポゾンが挿入した無発現変異 (null mutation) である³⁾。最近我々は、マルバアサガオの *CHS* 遺伝子がヘテロの状態では mRNA 量、タンパク質量、花弁に蓄積するアントシアニン色素量が各々野生型の約半分になるため不完全優性を示すことを明らかにした⁴⁾。換言すれば、マルバアサガオの不完全優性は活性化遺伝子数 (量) に従って表現型や遺伝子生成物の量が変わる遺伝子量効果 (gene dosage effect) のためであった。さらに、我々は相同組換えを介したノックインターゲティングによりイネの DNA メチル化酵素の一つ *MET1a* (*methyltransferase 1a*) 遺伝子の発現も遺伝子量効果を示すことを見出した⁷⁾。これらの結果を踏まえて、従来ほとんど問題にされてこなかった植物の内在性遺伝子発現の遺伝子量効果の問題について述べる。

2. *CHS* 遺伝子と不完全優性

花の主要色素アントシアニンはフラボノイド色素であり、4-クマロイル-CoA と 3 分子のマロニル-CoA からカルコンを生合成する *CHS* (カルコン合成酵素) は、フラボノイド生合成経路の最初の反応を司る酵素 (first committed enzyme) である^{3,5,6)}。キンギョソウの *CHS* 遺伝子については、劣性の無発現変異と共に半優性変異が知られており、後者は不完全優性を示す。キンギョソウの花の色に係わる *CHS* 遺伝子は遺伝学的には *Nivea* (*Niv*) 遺伝子とも呼ばれているが、この遺伝子の各々の *niv* 変異の構造を図 1a に示す。即ち、無発現変異 *niv-527* はプロモーターや構造遺伝子の 1 部を欠いた欠失 (deletion) 変異で白色花をつけるが、この白色花変異体と赤色花を咲かせる野生型を交雑して得られる F1 雑種は野生型と同じ赤色花をつける。ところが、*CHS* 遺伝子内に逆反復配列 (inverted repeats) が生じた半優性変異 *niv-525* や *niv-572* をもつために白色花をつける変異体と赤色花の野生型を交雑して得られる F1 雑種は野生型よりも淡い色の花をつける⁸⁾。換言すれば、*niv-527* は劣性変異であるが、*niv-525* や *niv-572* は野生型に対して部分的に優性 (partial dominant) を示す変異であって、キンギョソウの花で同じように不完全優性の形質を示しても、劣性の *F3H* 遺伝子の変異とは、分子機構が異なると考えられる⁶⁾。無発現変異 *niv-527* は F1 雑