

ポスター

フロアプレート由来の新規スルファターゼ遺伝子の構造と機能解析

大戸達之^{1,2}、内田 博¹、山崎博司¹、榎 和子³、松井 陽²、榎 正幸¹

(筑波大学 基礎医学系・分子神経生物学¹ 小児科² 防医大³)

発生期の脊髄腹側正中部に位置するフロアプレートは、神経軸索ガイダンスや細胞分化を担う重要な細胞群である。我々は、この細胞群の多彩な機能を担う新規の分子を単離するために、suppression subtractive hybridization法を用いて、ラット胎児のフロアプレート特異的に発現する遺伝子のスクリーニングを行い、新規のスルファターゼ(RsulfFP1)を単離した。また、最近 RsulfFP1 と同源性の高い RsulfFP2 遺伝子も単離した。

RsulfFP1、RsulfFP2 はスルファターゼ族に共通して保存されたアミノ酸配列を持ち、酵素活性に必須なシステイン残基も保存されている。これらの相同遺伝子は、線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、ウズラ、ヒトに存在し、スルファターゼ族の中で sulfFP ファミリーというサブグループを形成することが明らかになった。既知のスルファターゼの多くがリソソームでグリコサミノグリカン等の硫酸エステル結合を分解するのに対し、RsulfFP1 はゴルジ体と小胞体に局在することから、蛋白の合成過程において機能している可能性が示唆された。また RsulfFP1 蛋白の一部は細胞外にも存在し、細胞膜表面において脱硫酸化反応を行う可能性も考えられた。In situ hybridizationの結果、RsulfFP1 mRNA は胎生期ラットの脊髄フロアプレートの他、脳室脈絡叢、軟骨形成部位に強く発現し、生後には視床下部や大脳皮質にも発現していることが分かった。

ゼブラフィッシュにも2種類の相同遺伝子(ZsulfFP1,

2)が存在し、 ZsulfFP1 mRNA はフロアプレート細胞、ハイボコード、眼柄、顔面外胚葉、体節に、 ZsulfFP2 mRNA は外側フロアプレート細胞、脊髄・後脳・中脳の腹側領域、間脳、前交連、レンズに発現していた。 モルフォリノ・アンチセンス・オリゴヌクレオチドを用いた ZsulfFP1, 2 の機能欠損実験では、体軸の彎曲、頭部・眼球の低形成、眼球の内側偏位、色素細胞の減少などの多様な異常が観察され、これらの表現型は hedgehog や Wnt 変異体などの表現型と類似していた。

近年、ヘパラン硫酸合成に関わる酵素の欠損により、hedgehog や Wnt、FGF などのシグナル伝達が障害され、発生の形態形成に異常が生じる事がショウジョウバエの遺伝学的研究などから明らかにされている。更に、ウズラの sulfFP 相同遺伝子がヘパラン硫酸依存性の Wnt シグナル活性化に必要なことが示された。以上の結果から、sulfFP ファミリーがグリコサミノグリカン等の硫酸化パターンを変化させる事により、形態形成シグナル分子の情報伝達の調節に重要な役割を担っている可能性が考えられた。