

Title	Gene structure and promoter for Crad2 encoding mouse cis-retinol/3 α -hydroxysterol short-chain dehydrogenase isozyme.
Sub Title	マウスcrs-retinol/3 α -hydroxylleol short-chain dehydrogenase isozyme遺伝子であるCrad2の、遺伝子構造及びプロモーター構造
Author	富田, 謙吾(Tomita, Kengo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.10-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0010

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Gene structure and promoter for *Crad2* encoding mouse *cis*-retinol/3 α -hydroxysterol short-chain dehydrogenase isozyme.

(マウス *cis*-retinol/3 α -hydroxysterol short-chain dehydrogenase isozyme 遺伝子である *Crad2* の、
遺伝子構造及びプロモーター構造)

富 田 謙 吾

内容の要旨

ビタミンA (レチノール) の活性体であるレチノイン酸は、細胞の正常分化・脊椎動物の発生・形態維持に重要であることが知られている。レチノールはレチノール脱水素酵素によりレチナールに変換され、さらにレチナール脱水素酵素によりレチナールはレチノイン酸へ変換される。そしてこの一連の酸化反応の律速段階はレチノール脱水素の過程にあることが知られているため、レチノール酸化に携わるSDR酵素群 (ミクロソームに局在) が注目を集めている。そこで著者は、マウス肝臓cDNA libraryをスクリーニングし、その1メンバーである *Crad2* cDNA をクローニングした。CRAD2はall-*trans*, 9-*cis*, 11-*cis*レチノール脱水素酵素活性を有する。さらに、マウス P1 genomic DNA libraryをスクリーニングし、*Crad2*の完全長を含む別々の2クローンを分離し解析した。CRAD2をコードする領域は約5 kbに渡り、4つのエクソンと3つのイントロンを含んでいた。全てのエクソン・イントロン境界配列はGT/AG ruleに従っていた。次に、*Crad2*の転写開始点を決定するために、Primer extension解析とRNase protection解析を施行した。翻訳開始コドンATGの87bp及び89bp上流に、近接する2つの主要な転写開始点が認められた。さらに、約7.5kbのプロモーター領域の全遺伝子配列を決定しコンピューター解析したところ、転写因子AP-1, SREBP1, HNF-1, HNF-3 β , HSF2, NF- κ B/Rel, CREBP, c-Myc, GATA, Ets, E2F, Oct-1の認識配列と示唆される配列が存在した。さらにFISH解析を施行し、*Crad2*は染色体10D3座に位置することが明らかとなり、SDRファミリーのレチノール脱水素酵素群が同部でクラスターを形成する可能性が示唆された。次に、Northern解析とRT-PCR解析によりCRAD2 mRNAの局在を調べた。CRAD2 mRNAは、成体マウスでは肝臓に高発現を認め、胃と小腸で軽度の発現を認めたが、他組織では、発現が認められなかった。また、CRAD2 mRNAは胚性幹細胞・初期胚では発現を認めず、後期胚の肝臓で高発現を認めた。後期胚の小腸と腎臓でも軽度の発現を認めた。本研究は、All-*trans*及び9-*cis*レチノール脱水素酵素として機能するSDR酵素遺伝子群の遺伝子構造の初めての詳細な報告である。また本研究は、レチノイン酸が関与する消化管・肝臓疾患の病態にCRAD2が関わる可能性を示唆するものである。

論文審査の要旨

本研究では、マウスP1 genomic DNA libraryをスクリーニングし、SDR酵素群の1メンバーである *Crad2* の、4つのエクソンと3つのイントロンを含む遺伝子構造を決定した。次に、Primer extension解析とRNase protection解析を施行し、*Crad2*の転写開始点を決定した。約7.5kbのプロモーター領域の全遺伝子配列決定により、AP-1を始めとする複数の転写因子認識配列を認めた。FISH解析にて *Crad2* が染色体10D3座に位置することが明らかとなった。Northern解析とRT-PCR解析にて、CRAD2 mRNAは成体マウス肝臓に高発現を認め、胃と小腸で軽度の発現を認めた。また、胚性幹細胞・初期胚では発現を認めなかったものの、後期胚の肝臓で高発現を認め、後期胚の小腸と腎臓でも軽度の発現を認めることが明らかとなった。審査ではまず、*Crad2*がsingle geneであることの証明がないとの指摘があった。これに対し、論文中には示さなかったものの、標識 *Crad2* cDNA をprobeとしたgenomic DNAのSouthern解析及び、FISH解析により明らかとなったと説明された。実際に肝細胞の分化についてはどういう役割を果たしているのかという質問に対しては、筆者は肝細胞分化に伴いCRAD2 mRNA発現が増強することを確認しており、最終代謝産物であるall-*trans*及び9-*cis* retinoic acidが肝細胞分化を調節することが示唆されると回答した。そして今後レチノイン酸アッセイ系の確立が必要であるとの回答がなされた。何故、cytosolic ADHではなく、microsomal retinol dehydrogenaseの検討を行ったかという質問に対しては、ADH knock out miceで完全なレチノイン酸欠乏の表現形が現れないことが近年明らかとなっており、レチノール脱水素酵素として、ADHとSDRファミリーRDHとの間のredundancyが示唆されるため、SDRファミリーRDHの検討が必要であるとの回答がなされた。また、胎生期の発現の変動を検討する上で、より詳細な時系列の検討が望ましく、酸素呼吸の開始時期と発現の変動との相関、その際の各レチノール・レチナール代謝酵素の役割のredundancyに関するより詳細な解析が望まれるとの指摘がなされた。さらに、本研究を基に各種病態とレチノイン酸代謝との相関を明らかにするために、retinol dehydrogenase family、retinal dehydrogenase familyに関する総括的な研究が期待されるとの指摘がなされた。

以上のように、本研究はなお検討を要する点が残されたものの、レチノール脱水素酵素の発現動態・遺伝子構造を明らかとしたものであり、今後各種病態におけるレチノイン酸調節機序を検討する上で有意義な基礎的研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 石井 裕正

医化学 末松 誠 分子生物学 清水 信義

外科学 北島 政樹 解剖学 相磯 貞和

学術確認担当者:

審査委員長: 末松 誠

試問日: 平成15年2月17日