

平成 14 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

角膜上皮剝離後および発生過程の水晶体の細胞増殖における 細胞周期調節蛋白の役割

吉田 和彦¹⁾, 原田 高幸¹⁾, 原田知加子¹⁾, 加瀬 諭¹⁾, 池田 裕美²⁾, 酒井 正春²⁾
西 信三²⁾, 今城 純子³⁾, 中山 啓子⁴⁾, 永濱 裕康⁴⁾, 中山 敬一⁴⁾, 大野 重昭¹⁾

¹⁾北海道大学大学院医学研究科感覚器病学講座, ²⁾北海道大学大学院医学研究科分子生化学講座

³⁾日本医科大学解剖学第一講座, ⁴⁾九州大学生体防御医学研究所ゲノム機能制御部門・発生工学分野

要 約

目的：角膜上皮剝離後および発生過程の水晶体の細胞増殖における細胞周期調節蛋白の役割について検討する。

方法と結果：C57BL/6 マウス角膜に角膜上皮剝離を作製すると、サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p27 (KIP1) が消失する。角膜上皮細胞の増殖の時間経過は p27 (KIP1) の発現消失とよく相関している。p27 (KIP1) の分解に関与する蛋白質である Skp2 を欠失したマウスでは、角膜上皮剝離後の角膜上皮基底細胞の増殖が低下する。p27 (KIP1) と Skp2 をともに欠失したマウスでは、角膜上皮剝離後の角膜上皮基底細胞の増殖低下はみられない。c-maf を欠失したマウスでは、発生過程のレンズ後方にも増殖細胞がみられる。p27

(KIP1) と p57 (KIP2) は c-maf 遺伝子欠失マウスの水晶体後極にも強く発現していた。

結論：以上の結果から、角膜上皮剝離後の角膜上皮細胞の増殖には、Skp2 を介したサイクリン依存性キナーゼ阻害蛋白質 p27 (KIP1) の分解が必要であることが明らかになった。この結果から、c-maf 遺伝子は p27 (KIP1) や p57 (KIP2) とは別の遺伝子発現制御を介して増殖に関与していると考えられた。(日眼会誌 107 : 678-686, 2003)

キーワード：p27 (KIP1), p57 (KIP2), Skp2, c-maf, ノックアウトマウス

A Review

Proliferative Regulation in the Cornea and Lens

Kazuhiko Yoshida¹⁾, Takayuki Harada¹⁾, Chikako Harada¹⁾, Satoru Kase¹⁾
Hiromi Ikeda²⁾, Masaharu Sakai²⁾, Shinzo Nishi²⁾, Junko Imaki³⁾, Keiko Nakayama⁴⁾
Hiroyasu Nagahama⁴⁾, Keiichi I. Nakayama⁴⁾ and Shigeaki Ohno¹⁾

Department of ¹⁾Ophthalmology and ²⁾Biochemistry, Hokkaido University School of Medicine

³⁾Department of Anatomy, Nippon Medical College Department of ⁴⁾Molecular and Cellular Biology and Laboratory of Embryonic and Genetic Engineering, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

Abstract

Purpose : To examine the mechanism of regulation of proliferation in epithelial scraped cornea and the developing lens.

Method and Results : C57Bl6 mouse, p27 (KIP1) -/- mice, Skp2 -/- mice and Skp2 -/-/p27 (KIP1) -/- double knockout mice were examined

by immunocytochemistry using anti-p27 (KIP1) antibody, and cells in the "S" phase of DNA synthesis were analyzed by immunocytochemistry using anti-BrdU antibody. The p27 (KIP1) was expressed in basal cells of the central and peripheral region of the cornea and limbus. This expression was not

別刷請求先：060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目 北海道大学大学院医学研究科感覚器病学講座 吉田 和彦
(平成 15 年 4 月 3 日受付, 平成 15 年 9 月 10 日改訂受理)

Reprint requests to: Kazuhiko Yoshida, M.D. Department of Ophthalmology and Biochemistry, Hokkaido University School of Medicine. N 15, W 7, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan

(Received April 3, 2003 and accepted in revised form September 10, 2003)

detected 24 hr after epithelial scraping, when there were many cells in the “S” phase of DNA synthesis in the corneal epithelium. There was no obvious difference in the thickness and anti-BrdU staining in the corneal epithelium of p 27(KIP 1) $-/-$ mice from that of controls. 24 hr after the epithelial scraping in the Skp 2 $-/-$ mice, the corneal epithelium was thinner than in wild-type mice and had many p 27(KIP 1) positive cells and few BrdU positive cells. In contrast, 24 hr after the epithelial scraping in the Skp 2 $-/-$ /p 27(KIP 1) $-/-$ double knockout mice, the corneal epithelium was as thick as in wild-type mice and had many BrdU positive cells.

Conclusions : These results suggest that degradation of p27(KIP1) by Skp 2 is involved in the regulation of proliferation in response to wounding of the corneal epithelium. To examine the involvement of the c-maf gene in the proliferation of the lens cells,

eyes of the E13 and E18 stages of wild-type and c-maf $-/-$ mice were analyzed by BrdU incorporation assay, TUNEL assay, and immunocytochemistry using an anti-P 27 (KIP 1) and an anti-P 57 (KIP 2) antibody. In the E 13 and E 18 c-maf mutant lens, BrdU-positive cells were detected at the posterior region of the lens. Cell-cycle inhibitor P 27(KIP 1) and P 57(KIP 2) were expressed in the equatorial and posterior region of the lens of both wild-type and c-maf $-/-$ lenses. These results suggest that the expression of c-maf is required for differentiation and cell cycle arrest of lens cells independent of p 27(KIP 1) and p 57(KIP 2).

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 107 : 678–686, 2003)

Key words : p 27(KIP 1) $-/-$ mice, Skp 2 $-/-$ mice, anti-P 57(KIP 2) antibody, E 18 c-maf mutant lens, Double Knockout mice.

I 緒言

角膜中央部の上皮を搔爬すると、創傷領域外側の基底細胞が細胞周期へ入り増殖を開始する¹⁾²⁾。発生過程の

水晶体では、前方の上皮細胞は増殖しているが、赤道部の上皮細胞から水晶体線維細胞に分化する増殖が過程で停止し、後方の線維細胞では増殖はみられない。上皮細胞より水晶体線維細胞への分化には c-maf 遺伝子の発

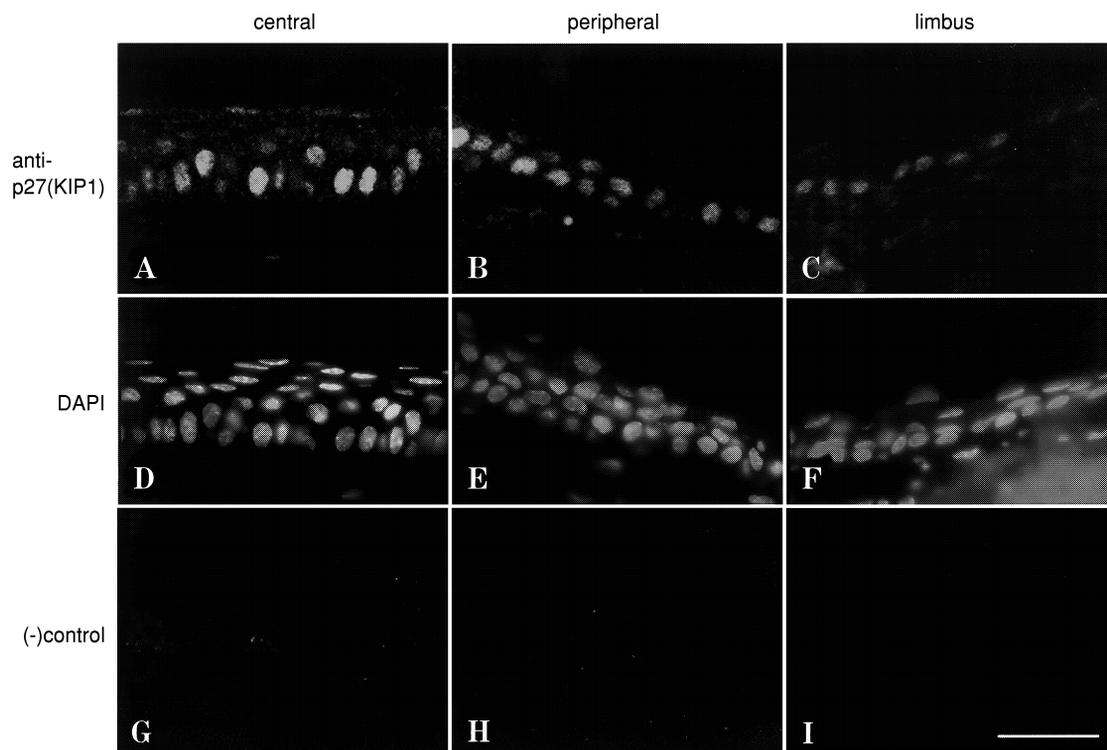


図 1 C 57 BL/6 マウス角膜における p 27(KIP 1) の局在.

C 57 BL/6 マウスにおける p 27(KIP 1) の免疫反応(A~C), DAPI 染色(D~F)および p 27(KIP 1) の陰性対照(G~I). 角膜中心部(A, D, G)と周辺部(B, E, H), 輪部(C, F, I). p 27(KIP 1) は角膜の中心部(A)と周辺部(B)および輪部(C)における基底細胞に発現している. P 27(KIP 1) の陰性対象として, FITC 標識したヤギ抗マウス IgG 抗体で, 一次抗体を反応させない連続切片を示す(G~I). Invest Ophthalmol Vis Sci 43 : 364-370, 2002. より引用.

現が必要であることが既に報告³⁾されている。

細胞周期はサイクリン、サイクリン依存性キナーゼ (CDKs) によって制御されている⁴⁾。細胞周期におけるサイクリン/CDKs 複合体の酵素活性は、種々の機構により制御されている。CDKs 阻害因子 (CKIs) はその代表的な因子である⁵⁾⁶⁾。p 27 (KIP 1) および p 57 (KIP 2) は CKIs であり、種々の細胞株において G 1 期から S 期への移行を抑制している⁷⁾⁸⁾。

我々は角膜上皮剥離後および発生過程の水晶体における細胞増殖制御のメカニズムを検討してきたので、ここで紹介したい^{9)~14)}。

II Skp 2 を介した p 27 (KIP 1) の分解による角膜上皮細胞の増殖制御

C 57 BL/6 マウス角膜に角膜上皮剥離を作製した後にみられる p 27 (KIP 1) の消失。

C 57 BL/6 マウス角膜における p 27 (KIP 1) の局在を免疫染色により検討したところ、p 27 (KIP 1) 陽性細胞はマウス角膜の中央部、周辺部、輪部の上皮基底細胞の核にみられた (図 1)。角膜中央部の外傷が角膜上皮細胞の増殖を誘導することが報告³⁾されているので、C 57 BL/6 マウスに直径 1 mm の角膜上皮剥離を作製する実験を行った (図 2)。角膜上皮剥離を作製した 6 時間後で

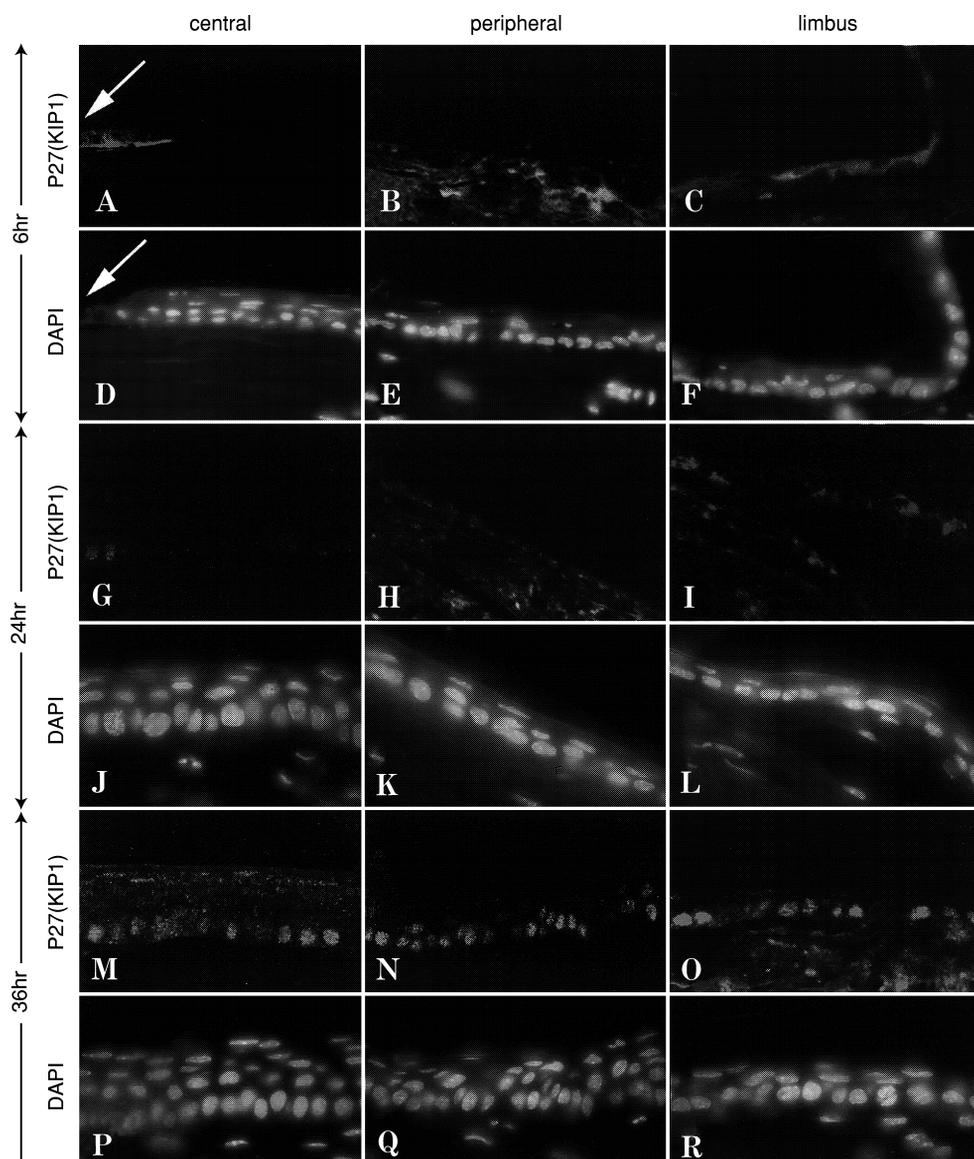


図 2 C 57 BL/6 マウス角膜に角膜上皮剥離を作製した後にみられる p 27 (KIP 1) の消失。

C 57 BL/6 マウスにおける角膜上皮剥離後 6 時間 (A~F)、24 時間 (G~L) および 36 時間 (M~R) の角膜の p 27 (KIP 1) の免疫染色陽性像 (A~C, G~I, M~O) および DAPI 染色 (D~F, J~L, P~R)。創傷治癒部の角膜上皮の先進部 (矢印) (A, D)。角膜の中心部 (G, J, M, P)。周辺部 (B, E, H, K, N, Q) および輪部 (C, F, I, L, O, R)。p 27 (KIP 1) の発現は角膜剥離後 6 時間および 24 時間ではなかったが、36 時間後に発現が確認された。Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 364-370, 2002. より引用。

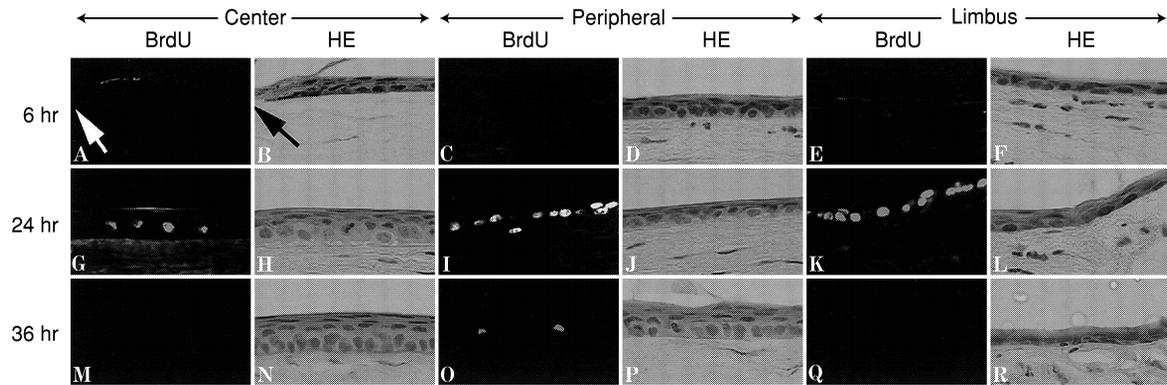


図 3 C 57 BL/6 マウス角膜に角膜上皮剥離を作製した後にみられる細胞増殖。

C 57 BL/6 マウスにおける角膜上皮剥離後 6 時間 (A~F), 24 時間 (G~L) および 36 時間 (M~R) の角膜の BrdU 染色 (A, C, E, G, I, K, M, O, Q) と HE 染色 (B, D, F, H, J, L, N, P, R). 創傷治癒部の角膜上皮の先進部 (矢印) (A, B). 角膜の中心部 (G, H, M, N). 周辺部 (C, D, I, J, O, P) および輪部 (E, F, K, L, Q, R). 標識された核は角膜上皮剥離 6 時間後では検出されなかったが, 24 時間後にはそれぞれの部位で検出された. BrdU 陽性細胞数は剥離 36 時間後に減少した (M~R). Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 364-370, 2002. より引用.

は, 角膜上皮剥離の境界, 周辺部, 輪部でも p 27 (KIP 1) 陽性細胞はみられなかった. 角膜上皮剥離を作製した 24 時間後の角膜上皮基底細胞においても, 中央部, 周辺部, 輪部のいずれにも p 27 (KIP 1) 陽性細胞はほとんどみられなかった. 角膜上皮剥離を作製した 36 時間後の角膜上皮基底細胞では, 中央部, 周辺部, 輪部のいずれにも p 27 (KIP 1) 陽性細胞がみられた.

III C 57 BL/6 マウス角膜に角膜上皮剥離を作製した後にみられる細胞増殖

BrdU は細胞が S-期にある時期にのみ取り込むため, 増殖している細胞を反映する. 角膜上皮剥離を作製した 6 時間後では, 角膜上皮剥離の境界, 周辺部, 輪部のいずれにも BrdU 陽性細胞はみられなかった (図 3 A, C, E), 角膜上皮剥離を作製した 24 時間後では, 中央部, 周辺部, 輪部のいずれにも BrdU 陽性細胞がみられた (図 3 G, I, K). 以上の結果から, 角膜上皮細胞の増殖は p 27 (KIP 1) の発現消失とよく相関していることが明らかになった.

IV Skp 2 ノックアウトマウスに角膜上皮剥離を作製した際の角膜上皮細胞の増殖

これまで細胞周期においては, p 27 (KIP 1) mRNA は変化しないことが報告¹⁵⁾されており, p 27 (KIP 1) は蛋白質に翻訳された後の修飾によって, その発現が調節されていると考えられている. 体細胞では, ユビキチン誘導性のプロテアソーム経路が p 27 (KIP 1) の分解に関与していることが報告¹⁶⁾されている. さらに, p 27 (KIP 1) は特異的に Skp 2 により認識され, およびこの過程が p 27 (KIP 1) をユビキチン化し, 分解する律速段階であることが報告¹⁷⁾¹⁸⁾された. そこで, Skp 2 ノックア

ウトマウスに角膜上皮剥離を作製する実験を行った (図 4). 角膜上皮剥離を作製した 24 時間後, 対照マウスの角膜周辺部と輪部の上皮は 3~4 層であるが, Skp 2 -/-マウスでは 1~2 層であった. 角膜上皮剥離を作製した 24 時間後, p 27 (KIP 1) 陽性細胞は対照マウスではほとんどみられなかったのに対し, Skp 2 ノックアウトマウスでは多数みられた. BrdU 陽性細胞は対照マウスでは多数みられたのに対し, Skp 2 ノックアウトマウスではほとんどみられなかった. これらの結果から, 角膜上皮剥離後の角膜上皮基底細胞における増殖と p 27 (KIP 1) の消失には Skp 2 が関与していることが明らかになった.

V p 27 (KIP 1) / Skp 2 ダブルノックアウトマウスに角膜上皮剥離を作製した際の角膜上皮細胞の増殖

Skp 2 ノックアウトマウスにおける角膜上皮細胞の増殖の低下が p 27 (KIP 1) が長く発現しているためなのかを検討するため, Skp 2 と p 27 (KIP 1) が両方欠失したマウスを用いて実験を行った (図 4). 角膜上皮剥離を作製した 24 時間後, Skp 2 -/-/p 27 (KIP 1) -/-マウスの角膜周辺部と輪部の上皮は 3~4 層で, BrdU 陽性細胞が多数みられた. この結果から, Skp 2 ノックアウトマウスにおける角膜上皮剥離後の角膜上皮細胞の増殖低下には, p 27 (KIP 1) が持続的に発現していることが原因となっていることが明らかになった. 著者らは角膜上皮細胞の分化に, 転写制御因子 NF- κ B の活性化が関与していることを報告¹⁰⁾している. この際に NF- κ B の働きを抑制する蛋白である I κ B は分解されていることが示されている¹⁰⁾. 培養細胞を用いた研究により I κ B はユビキチン化により分解されることがすでに明らかに

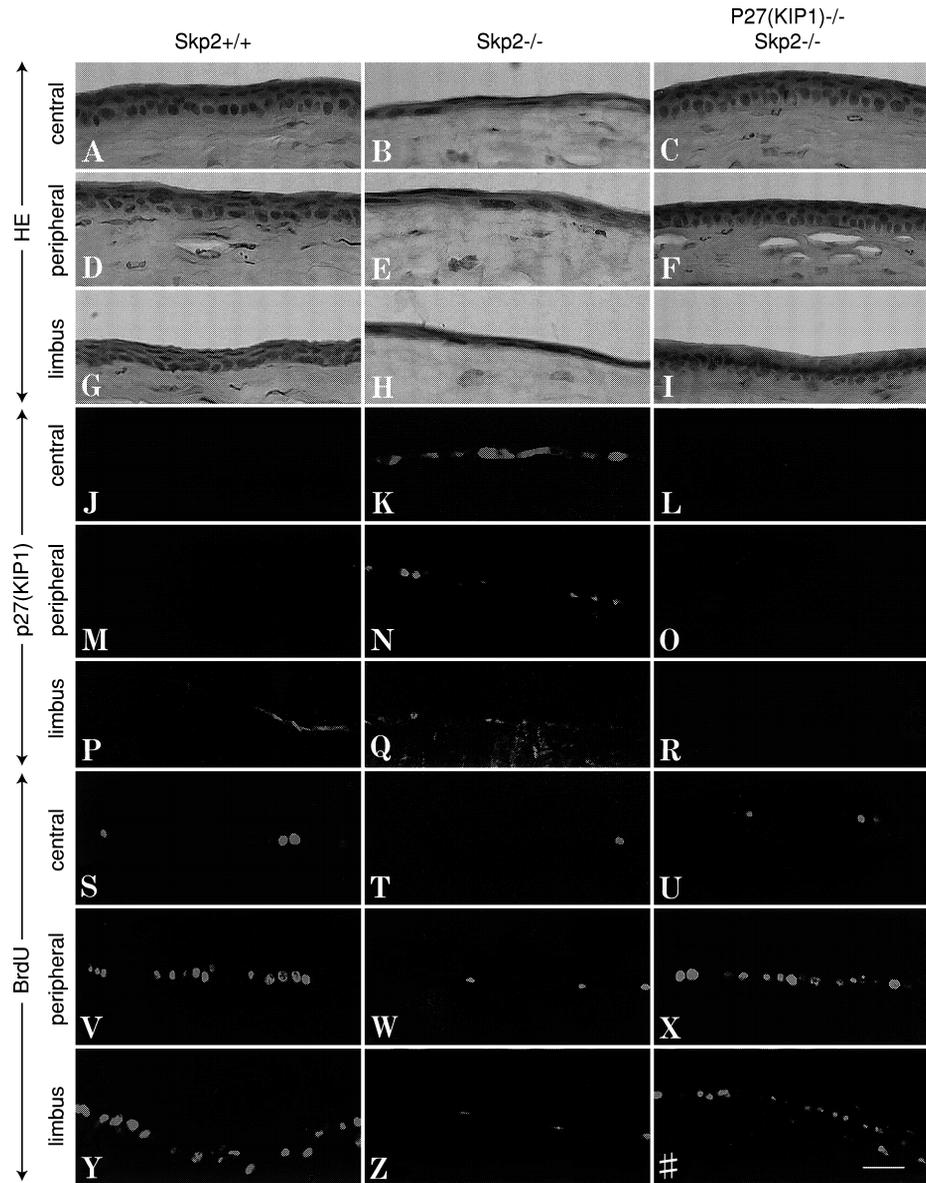


図 4 Skp 2 ノックアウトマウス, p 27(KIP 1)/Skp 2 ダブルノックアウトマウスに角膜上皮剝離を作製した 24 時間後.

Skp 2 野生型 (A, D, G, J, M, P, S, V, Y), Skp ノックアウトマウス (B, E, H, K, N, Q, T, W, Z) および Skp 2/p 27(KIP 1) ダブルノックアウトマウス (C, F, I, L, O, R, U, X, #) の角膜上皮剝離後 24 時間における角膜中心部 (A~C, J~L, S~U), 周辺部 (D~F, M~O, V~X) および輪部 (G~I, P~R, Y, Z, #) の HE 染色像 (A~I), p 27(KIP 1) の免疫反応 (J~R), BrdU 染色 (s, #). Skp 2 野生型では, 角膜上皮周辺部と輪部は 3~4 層の構造を示す (A, D, G) が, Skp 2 ノックアウトマウスではそれらが 1~2 層である (B, E, H). p 27(KIP 1) は Skp 2 野生型の角膜上皮では発現していないが (J, M, P), Skp 2 ノックアウトマウスではその発現が認められる (K, N, Q). Skp 2 野生型マウスにおける角膜上皮剝離後 24 時間で, 角膜の周辺部 (v) および輪部 (y) で多くの BrdU 染色陽性細胞が確認されたが, Skp 2 ノックアウトマウスでは陽性細胞はほとんどみられなかった (W, Z). Skp 2/p 27(KIP 1) ダブルノックアウトマウスでは, 角膜上皮剝離後 24 時間で, 角膜周辺部と輪部は 3~4 層の構造を示し (C, F, I), 多くの BrdU 陽性細胞が確認された (X, #). Invest Ophthalmol Vis Sci 43: 364-370, 2002. より引用.

なっており¹⁹⁾²⁰⁾, 角膜上皮細胞の増殖や分化にユビキチンを介した蛋白質分解機構が幅広く働いていると考えられる.

今回の研究では角膜上皮びらんがどのような外的因子を通して p 27(KIP 1) の分解を誘導したのかは明らかに

していない. 培養細胞を用いた研究では transforming growth factor (TGF)- β が p 27(KIP 1) の分解を誘導することが示されている²¹⁾. TGF- β receptor は角膜上皮障害に伴い発現されることも報告²²⁾されており, 角膜上皮びらんが TGF- β を介して p 27(KIP 1) の分解を誘導

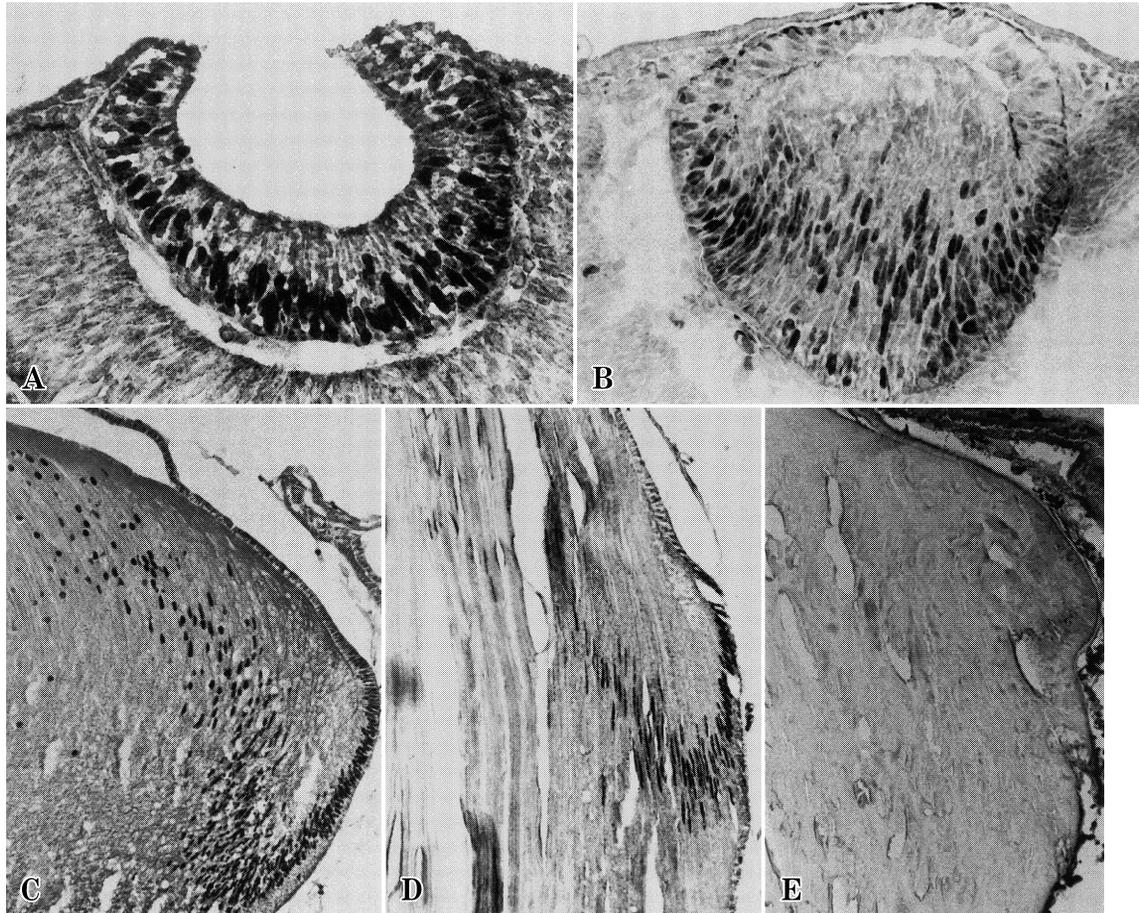


図 5 発生過程のラット水晶体における maf-2 蛋白の発現。

(A)E 12, (B)E 13, (C)E 16, (E)E 19, P 14 および P 90 ラット水晶体におけるウサギ抗 maf-2 抗血清反応。Conception の 12 日後, ほとんどすべての水晶体細胞が核に maf-2 の発現がみられた(A)。maf-2 の発現は胎生 13, 16, 19 日では, 水晶体上皮細胞ではみられず, 線維細胞の核に限局していた。(D)E 16 水晶体切片の染色にウサギ正常血清を用いた陰性対象。Curr Eye Res 23 : 116-119, 2001. より引用。

しているのかもしれない。

VI 水晶体発生における c-maf 遺伝子を介した転写制御

水晶体の発生・分化は胎生期の胚に起こっている。マウス胎生 12 日目, 眼杯が近づいた部分の表皮に c-maf 遺伝子が発現され, 水晶体細胞への分化が始まる⁹⁾(図 5)。その後, 水晶体上皮細胞が水晶体線維細胞に分化する過程で c-maf 遺伝子が発現される⁹⁾¹³⁾(図 5)。また, c-maf 遺伝子が発現される少し前の分化段階で別の転写制御因子である Pax 6 が発現する(図 6)。著者らは培養細胞を用いた研究により, c-maf 遺伝子は Pax 6 により転写調節を受けていることを報告¹⁴⁾している。他のグループにより c-maf 遺伝子がクリスタリン遺伝子群の転写制御に関与していることが報告³⁾²³⁾されている。したがって, 水晶体上皮細胞から水晶体線維細胞の分化は Pax 6 → c-maf → クリスタリン遺伝子群という 2 段階の転写制御により支配されていることになる。

胎生 18 日の正常マウスの水晶体は, 1 層の丸い上皮

細胞と規則正しく並んだ細長い水晶体線維細胞から成る整然とした構築がみられた。一方, 胎生 18 日の c-maf ノックアウトマウスでは, レンズ後方の細胞が伸展せずに, 空胞状の形を呈していた(図 7)。細胞増殖能を知るために, BrdU 取り込み実験により DNA の合成を調べた。正常マウスでは増殖している細胞は前方の上皮細胞に限られており, 後方の細胞にはみられなかったが, c-maf ノックアウトマウスではレンズ後方にも BrdU-陽性細胞がみられた(図 7)。

水晶体上皮細胞が分化した水晶体線維細胞へ移行するには細胞周期が停止することが必要であること, および CKIs である p 27(KIP 1), p 57(KIP 2)が水晶体上皮細胞の細胞周期の停止を誘導することが報告⁷⁾された。c-maf 蛋白は転写制御遺伝子であることから, 遺伝子発現制御を介して水晶体上皮細胞の増殖に関与していると考えられる。そこで, c-maf ノックアウトマウスでレンズ水晶体線維細胞における p 27(KIP1)および p 57(KIP 2)の発現について調べた。p 27(KIP1)と p 57(KIP 2)は c-maf 遺伝子欠失マウスの水晶体後極にも強く発現し

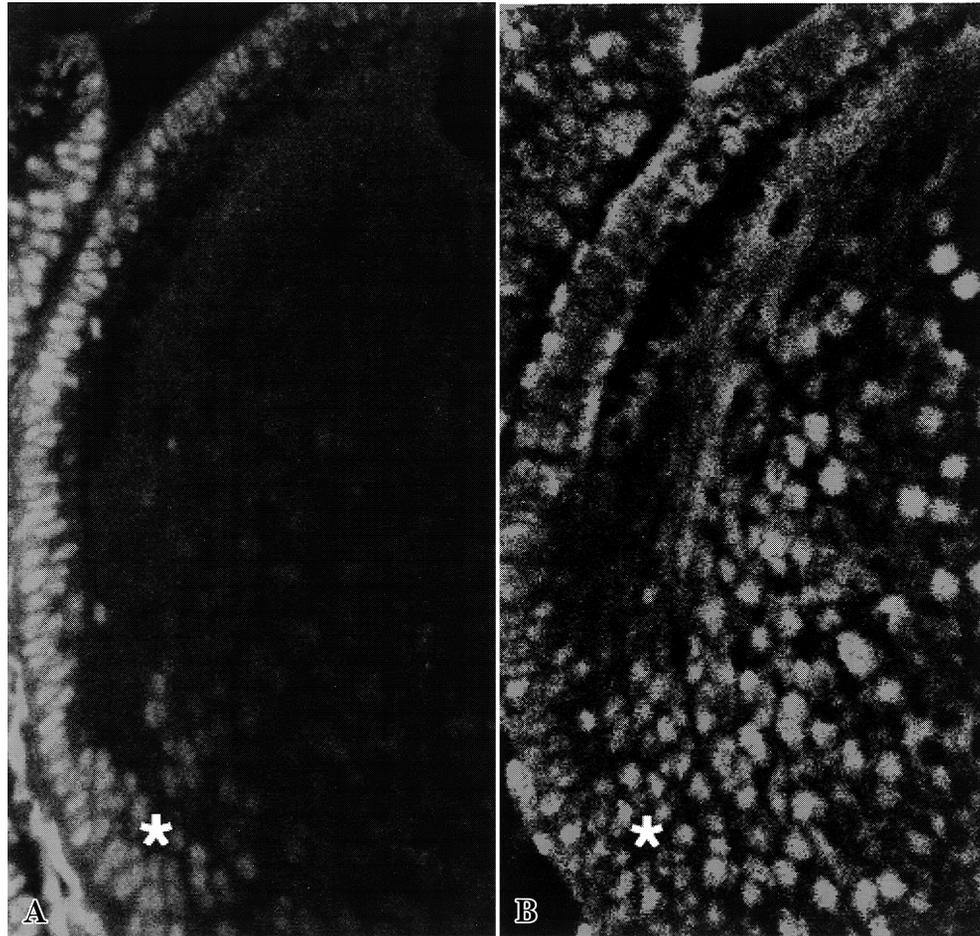


図 6 水晶体上皮細胞における pax 6 および c-maf の発現。

水晶体赤道およびその近傍の水晶体上皮細胞は pax 6 (A) を発現している。c-maf (B) の発現は水晶体赤道部と線維細胞にみられる。Nucleic Acids Res 29 : 1228-1237, 2001. より引用。

ていた。この結果から、c-maf 蛋白は p27 (KIP 1) や p57 (KIP2) とは別の遺伝子発現制御を介して増殖に関与していると考えられた (図 7)。

近年、マウスの c-maf 遺伝子に変異を入れると人間の小眼球症、先天性白内障に類似した病態を生じることや²⁴⁾、c-maf 遺伝子の変異がみられる先天性白内障、虹彩欠損の患者についての報告²⁵⁾²⁶⁾がなされている。c-maf 遺伝子を介した転写制御機構は、様々な先天性の眼疾患の発症過程に関与していることが推測される。

最近、p27 (KIP 1) は網膜色素上皮細胞や毛様体細胞の増殖制御に関与していることが報告²⁷⁾され、p27 (KIP 1) は眼の様々な部位の増殖に関わっていることが明らかにされつつある。

文 献

- 1) **Cotsarelis G, Cheng SZ, Dong G, Sun TT, Lavker RM** : Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate : Implications on epithelial stem cells. *Cell* 57 : 201-209, 1989.
- 2) **Chung EH, Hutcheon AE, Joyce NC, Zieske JD** : Synchronization of the G1/S transition in response to corneal debridement. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 1952-1958, 1999.
- 3) **Kim JI, Li T, Ho IC, Grusby MJ, Glimcher LH** : Requirement for the c-Maf transcription factor in crystallin gene regulation and lens development. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 3781-3785, 1999.
- 4) **Sherr CJ, Roberts JM** : Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 9 : 1149-1163, 1995.
- 5) **Toyoshima H, Hunter T** : p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 78 : 67-74, 1994.
- 6) **Kato JY, Matsuoka M, Polyak K, Massague J, Sherr CJ** : Cyclic AMP-induced G1 phase arrest mediated by an inhibitor (p27 KIP 1) of cyclin-dependent kinase 4 activation. *Cell* 79 : 487-496, 1994.
- 7) **Zhang P, Liegeois NJ, Wong C, Finegold M, Hou H, Thompson JC, et al** : Altered cell differentiation and proliferation in mice lacking p57 KIP 2 indicates a role in Beckwith-Wiedemann

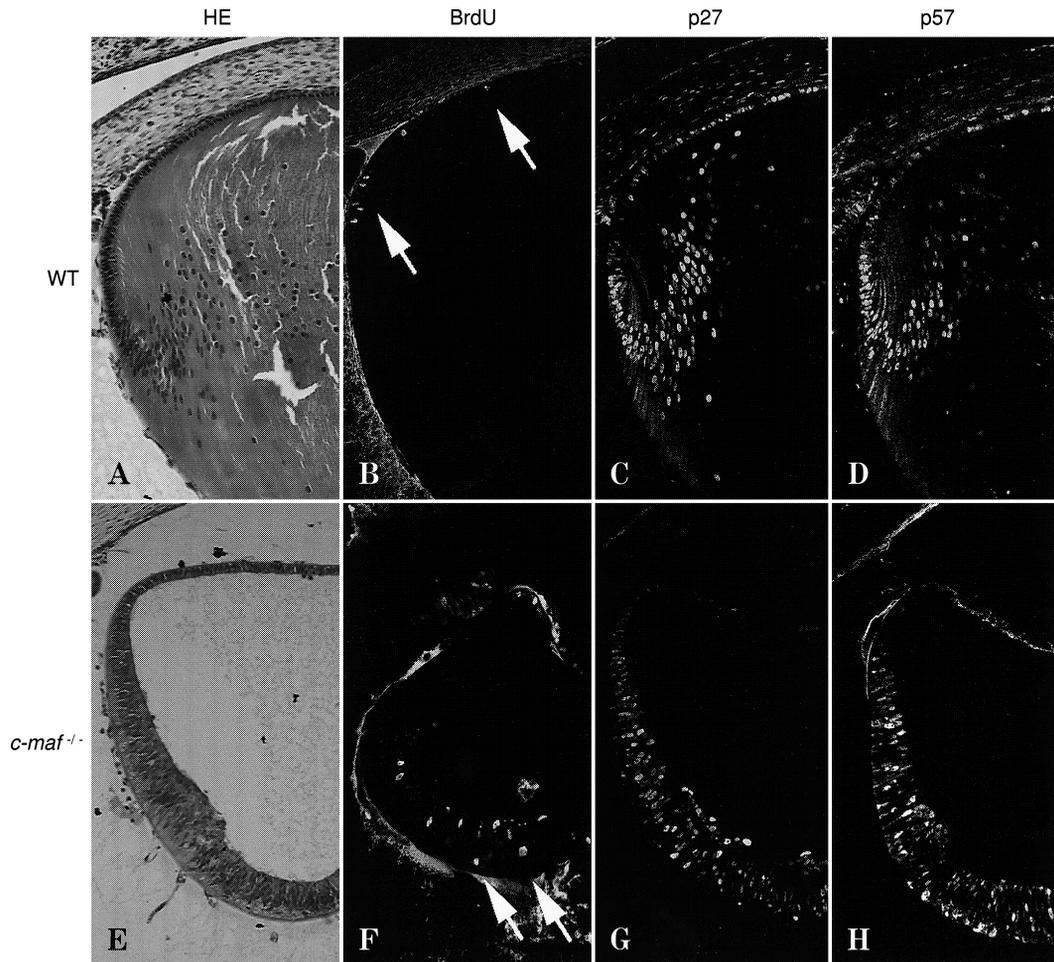


図 7 *c-maf* ノックアウトマウスの水晶体における細胞増殖と p 27 (KIP 1), p 57 (KIP 2) の発現.

E 18 野生型 (A~D) と *c-maf* ノックアウトマウス (E~H) における HE 染色 (A, E), BrdU, (B, F), P 27 (KIP 1) (C, G) および P 57 (KIP 2) (D, H) の免疫反応. *c-maf* ノックアウトマウスでは水晶体後部にも分裂細胞がみられる (F). 野生型の水晶体では, 赤道領域の水晶体線維細胞に p 27 (KIP 1), p 57 (KIP 2) が発現している (C, D). *c-maf* ノックアウトマウスの赤道部および水晶体後部においても, p 27 (KIP 1) および p 57 (KIP 2) の発現がみられる (G, H). *Curr Eye Res* 23 : 116-119, 2001. より引用.

syndrome. *Nature* 387 : 151-158, 1997.

- 8) Zhang P, Wong C, DePinho RA, Harper JW, Elledge SJ : Cooperation between the Cdk inhibitors p 27 (KIP 1) and p 57 (KIP 2) in the control of tissue growth and development. *Genes Dev* 12 : 3162-3167, 1998.
- 9) Yoshida K, Imaki J, Koyama Y, Harada T, Shinmei Y, Oishi C, et al : Differential expression of *maf-1* and *maf-2* genes in the developing rat lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 2679-2683, 1997.
- 10) Yoshida K, Hu Y, Karin M : IkappaB kinase alpha is essential for development of the mammalian cornea and conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3665-3669, 2000.
- 11) Yoshida K, Nakayama K, Nagahama H, Harada T, Harada C, Imaki J, et al : Involvement of p 27 (KIP 1) degradation by Skp 2 in the regulation of proliferation in response to wounding of corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 364-370, 2002.
- 12) Yoshida K, J. I. Kim, Imaki J, Hiromi I, Nishi S, Matsuda H, et al : Proliferation in the posterior region of the lens of *c-maf*^{-/-} mice. *Curr Eye Res* 23 : 116-119, 2001.
- 13) Sakai M, Imaki J, Yoshida K, Ogata A, Matsushima-Hibaya Y, Kuboki Y, et al : Rat *maf* related genes : Specific expression in chondrocytes, lens and spinal cord. *Oncogene* 14 : 745-750, 1997.
- 14) Sakai M, Serria MS, Ikeda H, Yoshida K, Imaki J, Nishi S : Regulation of *c-maf* gene expression by Pax 6 in cultured cells. *Nucleic Acids Res* 29 : 1228-1237, 2001.
- 15) Polyak K, Lee MH, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, et al : Cloning of p 27 Kip 1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimito-

- genic signals. *Cell* 78 : 59–66, 1994.
- 16) **Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, Beer-Romero P, Del Sal G, Chau V, et al** : Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p 27. *Science* 269 : 682–685, 1995.
 - 17) **Carrano AC, Eytan E, Hershko A, Pagano M** : SKP 2 is required for ubiquitin-mediated degradation of the CDK inhibitor p 27. *Nat Cell Biol* 1 : 193–199, 1999.
 - 18) **Tsvetkov LM, Yeh KH, Lee SJ, Sun H, Zhang H** : p 27(Kip 1) ubiquitination and degradation is regulated by the SCF(Skp 2) complex through phosphorylated Thr 187 in p 27. *Curr Biol* 9 : 661–664, 1999.
 - 19) **Thanos D, Maniatis T** : NF-kappa B : A lesson in family values. *Cell* 80 : 529–532, 1995.
 - 20) **Hu Y, Baud V, Oga T, Kim KI, Yoshida K, Karin M** : IKKalpha controls formation of the epidermis independently of NF-kappa B. *Nature* 410 : 710–714, 2001.
 - 21) **Polyak K, Kato JY, Solomon MJ, Sherr CJ, Massague J, Roberts JM, et al** : p 27 Kip 1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest. *Genes Dev* 8 : 9–22, 1994.
 - 22) **Zieske JD, Hutcheon AE, Guo X, Chung EH, Joyce NC** : TGF-beta receptor types I and II are differentially expressed during corneal epithelial wound repair. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 1465–1471, 2001.
 - 23) **Ring BZ, Cordes SP, Overbeek PA, Barsh GS** : Regulation of mouse lens fiber cell development and differentiation by the Maf gene. *Development* 127 : 307–317, 2000.
 - 24) **Lyon MF, Jamieson RV, Perveen R, Glenister PH, Griffiths R, Boyd Y, et al** : A dominant mutation within the DNA-binding domain of the bZIP transcription factor Maf causes murine cataract and results in selective alteration in DNA binding. *Hum Mol Genet* 12 : 585–594, 2003.
 - 25) **Jamieson RV, Munier F, Balmer A, Farrar N, Perveen R, Black GC** : Pulverulent cataract with variably associated microcornea and iris coloboma in a MAF mutation family. *Br J Ophthalmol* 87 : 411–412, 2003.
 - 26) **Jamieson RV, Perveen R, Kerr B, Carette M, Yardley J, Heon E, et al** : Domain disruption and mutation of the bZIP transcription factor, MAF, associated with cataract, ocular anterior segment dysgenesis and coloboma. *Hum Mol Genet* 11 : 33–42, 2002.
 - 27) **Yoshida K, Nakayama K, Nagahama H, Harada T, Ikeda H, Kase S, et al** : Involvement of p 27(KIP 1) in proliferation of the retinal pigment epithelium and ciliary body. *Anatomy and Embryology* in press.
-