

**DEPARTMENT OF CELL BIOLOGY  
LABORATORY OF GROWTH REGULATION**

The research interest of this laboratory is to understand the molecular mechanism of cell differentiation and organogenesis. Particularly, we are interested in basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factors that regulate mammalian neural development. We are characterizing their functions by misexpressing the genes with retrovirus and electroporation (gain-of-function study) and by generating knock-out mice (loss-of-function study). During neural development, the following steps occur sequentially: (1) maintenance of neural stem cells, (2) neurogenesis and (3) gliogenesis. Our results indicate that all three steps are regulated by bHLH genes. However, bHLH genes alone are not sufficient but homeodomain genes are additionally required for neuronal subtype specification. We are also interested in biological clocks that regulate embryogenesis. We found that the bHLH genes *Hes1* and *Hes7* display oscillatory expression with two-hour periodicity and regulate the timing of developmental processes.

**1) Ultradian oscillations in Stat, Smad and Hes1 expression in response to serum: S. YOSHIURA, T. OHTSUKA, Y. TAKENAKA, H. NAGAHARA, K. YOSHIKAWA and R. KAGEYAMA**

Serum response has been used as a model for studying signaling transduction for many biological events such as cell proliferation and survival. While expression of many genes is up- or down-regulated after serum stimulation, the Notch effector *Hes1* displays oscillatory response. However, the precise mechanism and biological significance of this oscillation remain to be determined. Here, we identified novel serum-induced ultradian oscillators, including molecules in Stat and Smad signaling. Stat and Smad oscillations involve activation of Stat3 and Smad1 and delayed negative feedback by their inhibitors Socs3 and Smad6, respectively. Moreover, Stat oscillations induce oscillatory expression of *Hes1* by regulating its half-life, and loss of *Hes1* oscillations leads to G1 phase retardation of the cell cycle. These results indicate that coupled Stat and *Hes1* oscillations are important for efficient cell proliferation, and provide evidence that expression modes of signaling molecules affect downstream cellular events.

**2) The initiation and propagation of Hes7 oscillation are cooperatively regulated by Fgf and Notch signaling in the somite segmentation clock: Y. NIWA, Y. MASAMIZU, T. LIU, R. NAKAYAMA, C.-X. DENG and R. KAGEYAMA**

Periodic formation of somites is controlled by the segmentation clock, where the oscillator *Hes7* regulates cyclic expression of the Notch modulator *Lunatic fringe*. Here, we show that *Hes7*

also regulates cyclic expression of the Fgf signaling inhibitor *Dusp4* and links Notch and Fgf oscillations in phase. Strikingly, inactivation of Notch signaling abolishes the propagation but allows the initiation of *Hes7* oscillation. By contrast, transient inactivation of Fgf signaling abolishes the initiation, whereas sustained inactivation abolishes both the initiation and propagation of *Hes7* oscillation. We thus propose that *Hes7* oscillation is initiated by Fgf signaling and propagated/maintained anteriorly by Notch signaling.

**3) *Hes1* and *Hes5* control the progenitor pool and intermediate lobe specification in the pituitary development: A. KITA, I. IMAYOSHI, M. HOJO, M. KITAGAWA, H. KOKUBU, R. OHSAWA, T. OHTSUKA, R. KAGEYAMA and N. HASHIMOTO**

The pituitary gland is composed of two distinct entities: the adenohypophysis, including the anterior and intermediate lobes, and the neurohypophysis, known as the posterior lobe. This critical endocrine organ is essential for homeostasis, metabolism, reproduction, and growth. The pituitary development requires the control of proliferation and differentiation of progenitor cells. Although multiple signaling molecules and transcription factors are required for the proper pituitary development, the mechanisms that regulate the fate of progenitor cells remain to be elucidated. *Hes* genes, known as Notch effectors, play a crucial role in specifying cellular fates during the development of various tissues and organs. Here, we report that mice deficient for *Hes1* and *Hes5* display severe pituitary hypoplasia caused by accelerated differentiation of progenitor cells. In addition, this hypoplastic pituitary gland (adenohypophysis) lacks the intermediate lobe and exhibits the features of the anterior lobe only. *Hes1* and *Hes5* double-mutant mice also lack the neurohypophysis (the posterior lobe), probably due to incomplete evagination of the diencephalon. Thus, *Hes* genes control not only maintenance of progenitor cells but also intermediate vs. anterior lobe specification during the adenohypophysis development. *Hes* genes are also essential for the formation of the neurohypophysis.

**4) *Id* sustains *Hes1* expression to inhibit precocious neurogenesis by releasing negative autoregulation of *Hes1*: G. BAI, N. SHENG, W. BIAN, Z. XIE, Y. YOKOTA, R. BENEZRA, R. KAGEYAMA, F. GUILLEMOT and N. JING**

Negative bHLH transcription factor *Hes1* can inhibit neural stem cells (NSCs) from precocious neurogenesis through repressing proneural gene expression; therefore, sustenance of *Hes1* expression is crucial for NSC pool maintenance. Here we find that *Ids*, the dominant-negative regulators of proneural proteins, are expressed prior to proneural genes and share an overlapping expression pattern with *Hes1* in the early neural tube of chick embryos. Overexpression of *Id2* in the chick hindbrain upregulates *Hes1* expression and inhibits proneural gene expression and

neuronal differentiation. By contrast, Hes1 expression decreases, proneural gene expression expands, and neurogenesis occurs precociously in Id1;Id3 double knockout mice and in Id1-3 RNAi-electroporated chick embryos. Mechanistic studies show that Id proteins interact directly with Hes1 and release the negative feedback autoregulation of Hes1 without interfering with its ability to affect other target genes. These results indicate that Id proteins participate in NSC maintenance through sustaining Hes1 expression in early embryos.

**5) *Six1* is essential for generating pioneer neurons, differentiation of olfactory sensory neurons, and production of sustentacular cell progenitors in olfactory epithelium: K. IKEDA, Z. ANDO, S. OOKAWARA, S. SATO, R. KAGEYAMA and K. KAWAKAMI**

The olfactory epithelium (OE) is derived from the olfactory placode (OP) during mouse development. At embryonic day (E) 10.0-E10.5, "early neurogenesis" occurs in the OE, which includes production of pioneer neurons that emigrate out of the OE and other early-differentiated neurons. Around E12.5, the OE becomes organized into mature pseudostratified epithelium and shows "established neurogenesis," in which olfactory receptor neurons (ORNs) are differentiated from basal progenitors. Little is known about the molecular pathway of early neurogenesis. The homeodomain protein *Six1* is expressed in all OP cells and neurogenic precursors in the OE. Here we show that early neurogenesis is severely disturbed despite the unaltered expression of *Mash1* at E10.5 in the *Six1*-deficient mice (*Six1*<sup>-/-</sup>). Expression levels of neurogenin1 (*Ngn1*) and *NeuroD* are reduced and those of *Hes1* and *Hes5* are augmented in the OE of *Six1*<sup>-/-</sup> at E10.5. Pioneer neurons and cellular aggregates, which are derived from the OP/OE and situated in the mesenchyme between the OE and forebrain, are completely absent in *Six1*<sup>-/-</sup>. Moreover, ORN axons and the gonadotropin-releasing hormone-positive neurons fail to extend and migrate to the forebrain, respectively. Our study indicates that *Six1* plays critical roles in early neurogenesis by regulating *Ngn1*, *NeuroD*, *Hes1*, and *Hes5*.

**6) Notch and HES5 are regulated during human cartilage differentiation: C. KARLSSON, M. JONSSON, J. ASP, C. BRANTSING, R. KAGEYAMA and A. LINDAHL**

The molecular mechanisms of cartilage differentiation are poorly understood. In a variety of tissues other than cartilage, members of the basic helix-loop-helix (bHLH) family of transcription factors have been demonstrated to play critical roles in differentiation. We have characterized the human bHLH gene *HES5* and investigated its role during chondrogenesis. Blockage of the Notch signaling pathway with a gamma-secretase inhibitor has demonstrated that the human *HES5* gene is a downstream marker of Notch signaling in articular chondrocytes. Markers for the Notch signaling pathway significantly decrease during cartilage differentiation in

vitro. Cell proliferation assayed by using BrdU has revealed that blockage of Notch signaling is associated with significantly decreased proliferation. Northern blot and reverse transcription/polymerase chain reaction of a panel of various tissues have shown that HES5 is transcribed as a 5.4-kb mRNA that is ubiquitously expressed in diverse fetal and adult tissues. Articular cartilage from HES5(-/-) and wild-type mice has been analyzed by using various histological stains. No differences have been detected between the wild-type and HES5(-/-) mice. Our data thus indicate that the human HES5 gene is coupled to the Notch receptor family, that expression of Notch markers (including HES5) decreases during cartilage differentiation, and that the blockage of Notch signaling is associated with significantly decreased cell proliferation.

## LIST OF PUBLICATIONS

Department of Cell Biology

Laboratory of Growth Regulation

- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., and Kageyama, R. (2007) The initiation and propagation of *Hes7* oscillation are cooperatively regulated by Fgf and Notch signaling in the somite segmentation clock. **Dev. Cell** 13, 298-304.
- Yoshiura, S., Ohtsuka, T., Takenaka, Y., Nagahara, H., Yoshikawa, K., and Kageyama, R. (2007) Ultradian oscillations in Stat, Smad and *Hes1* expression in response to serum. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 104, 11292-11297.
- Kageyama, R., Ohtsuka, T., and Kobayashi, T. (2007) The *Hes* gene family: repressors and oscillators that orchestrate embryogenesis. **Development** 134, 1243-1251.
- Kageyama, R., Masamizu, Y., and Niwa, Y. (2007) Oscillator mechanism of Notch pathway in the segmentation clock. **Dev. Dyn.** 236, 1403-1409.
- Kita, A., Imayoshi, I., Hojo, M., Kitagawa, M., Kokubu, H., Ohsawa, R., Ohtsuka, T., Kageyama, R., and Hashimoto, N. (2007) *Hes1* and *Hes5* control the progenitor pool and intermediate lobe specification in the pituitary development. **Mol. Endocrinol.** 21, 1458-1466.
- Bai, G., Sheng, N., Bian, W., Xie, Z., Yokota, Y., Benezra, R., Kageyama, R., Guillemot, F., and Jing, N. (2007) *Id* sustains *Hes1* expression to inhibit precocious neurogenesis by releasing negative autoregulation of *Hes1*. **Dev. Cell** 13, 283-297.
- Karlsson, C., Jonsson, M., Asp, J., Brantsing, C., Kageyama, R., and Lindahl, A. (2007) Notch and HES5 are regulated during human cartilage differentiation. **Cell Tissue Res.** 327, 539-551.
- Gonzalez, A., and Kageyama, R. (2007) Practical lessons from theoretical models about the somitogenesis. **Gene Regulation and Systems Biology** 1, 35-42.
- Ikeda, K., Ando, Z., Ookawara, S., Sato, S., Kageyama, R., and Kawakami, K. (2007) *Six1* is essential for generating pioneer neurons, differentiation of olfactory sensory neurons, and production of sustentacular cell progenitors in olfactory epithelium. **Dev. Biol.** 311, 53-68.

- 丹羽康貴、影山龍一郎： *Hes* オシレーションから広がる分節時計のメカニズム. 実験医学、25: 1586-1591. 2007.
- 正水芳人、影山龍一郎： 2時間周期の生物時計 *Hes1* の可視化と分節時計のシミュレーション. 実験医学、25: 1663-1669. 2007.
- 大塚俊之、影山龍一郎： ニューロン新生における bHLH 因子と Notch シグナルの役割. 実験医学、25: 2964-2971. 2007.
- 

- Kageyama, R.: Ultradian clocks that regulate somite segmentation and other events. Joint Spring Meeting of the Genetics Society, the British Society for Developmental Biology and the British Society of Cell Biology. Edinburgh, UK, 2007.
- Kageyama, R.: The bHLH gene network in neural development. The Toshiya Yamada Memorial Lecture, Brisbane, Australia, 2007.
- Kageyama, R.: The mechanism of ultradian oscillations in the somite segmentation and other events. 72<sup>nd</sup> Cold Spring Harbor Symposium, Cold Spring Harbor, USA, 2007.
- Kageyama, R.: The mechanism of ultradian oscillations in the somite segmentation and other events. Segmentation Meeting, Cancun, Mexico, 2007.
- Kageyama, R.: The role of *Hes1* in brain development. The Notch Meeting, Athens, Greece, 2007.
- Kageyama, R.: The role of bHLH genes in neural development. The Annual Meeting of KSMBMB, Seoul, Korea, 2007
- Kageyama, R.: The bHLH gene network in neural development. Neurogenesis 2007. Tokyo, 2007.
- Kageyama, R.: Ultradian oscillators in somite segmentation and other events. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Imayoshi, I., Itohara, S., Ikeda, T. and Kageyama, R.: Functional significance of adult neurogenesis in the mouse brain. IBRO Satellite Meeting on Neural Development, Cairns, Australia, 2007.
- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., Kageyama, R.: New molecular mechanism regulating *Hes7* oscillation in the somite segmentation clock. Segmentation Meeting, Cancun, Mexico, 2007.
- Imayoshi, I.: Functional significance of adult neurogenesis in the mouse brain. 東京大学堀場国際会議 東大 130 周年記念事業 Kornberg1+3, Tokyo, 2007.
- Shimojo, H., Ohtsuka, T. and Kageyama, R.: Oscillatory *Hes1* expression in dividing and differentiating neural progenitors. 16<sup>th</sup> Biennial Meeting of the International Society of Developmental Neuroscience. Neurogenesis 2007. Tokyo, 2007.
- Imayoshi, I., Shimogori, T. and Kageyama, R.: The bHLH transcriptional network regulates the differentiation of Cajal-Retzius and choroid plexus epithelial cells in the mouse telencephalon. Neurogenesis 2007. Tokyo, 2007.

- Imayoshi, I., Shimogori, T. and Kageyama, R.: The bHLH transcriptional network regulates the differentiation of Cajal-Retzius and choroid plexus epithelial cells in the mouse telencephalon. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Kokubu, H., Ohtsuka, T. and Kageyama, R.: Mash1 is required for the development of endocrine cells in the glandular stomach. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., Kageyama, R.: New molecular mechanism regulating Hes7 oscillation in the somite segmentation clock. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Takashima, Y., Masamizu, Y., Ohtsuka, T., Yamada, S. and Kageyama, R.: Visualization of the segmentation clock by real-time imaging of Hes7 expression. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Yoshiura, S., Ohtsuka, T., Takenaka, Y., Nagahara, H., Yoshikawa, K. and Kageyama, R.: Ultradian oscillations of Stat, Smad and Hes in cultured cells. The 4<sup>th</sup> International Symposium on bHLH genes: Development and Diseases. Kyoto, 2007.
- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., Kageyama, R.: The initiation and propagation of Hes7 oscillation are cooperatively regulated by Fgf and Notch signaling in the somite segmentation clock. The 2<sup>nd</sup> International Workshop on Natural Computing. Nagoya, 2007.
- Shimojo, H., Ohtsuka, T. and Kageyama, R.: Oscillations in Notch signaling regulate maintenance of neural progenitors. International Symposium Celebrating Dr. David S. Hogness, Recipient of the 23<sup>rd</sup> International Prize for Biology. Kyoto, 2007.
- Takashima, Y., Masamizu, Y., Ohtsuka, T., Yamada, S. and Kageyama, R.: Visualization of the segmentation clock by real-time imaging of Hes7 expression. International Symposium Celebrating Dr. David S. Hogness, Recipient of the 23<sup>rd</sup> International Prize for Biology. Kyoto, 2007.
- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., Kageyama, R.: The initiation and propagation of Hes7 oscillation are cooperatively regulated by Fgf and Notch signaling in the somite segmentation clock. International Symposium Celebrating Dr. David S. Hogness, Recipient of the 23<sup>rd</sup> International Prize for Biology. Kyoto, 2007.
- 影山龍一郎：脳形成を制御する転写因子ネットワーク。第49回日本小児神経学会総会、大阪、2007。
- Kageyama, R., Shimojo, H. and Ohtsuka, T.: Oscillatory versus persistent Hes1 expression promotes proliferation and differentiation of neural progenitors. Neuro 2007、横浜、2007。
- Niwa, Y., Masamizu, Y., Liu, T., Nakayama, R., Deng, C.-X., Kageyama, R.: New molecular mechanism regulating Hes7 oscillation in the somite segmentation clock. 第40回日本発生

生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会、福岡、2007.

今吉格、糸原重美、池田敏男、影山龍一郎：マウス成体脳における神経新生の機能的意義、  
Neuro 2007、横浜、2007.

Kageyama, R.: Ultradian oscillators in somite segmentation and other biological events. BMB 2007、  
横浜、2007.

小林妙子、水野浩彰、影山龍一郎：胚性幹細胞におけるHes1のオシレーション。Neuro 2007、  
横浜、2007.

下條博美、大塚俊之、影山龍一郎：Oscillations in Notch signaling regulate maintenance of  
neural progenitors. Neuro 2007、横浜、2007.

石井章子、小林妙子、影山龍一郎：リジン残基を介したHes7の転写抑制活性調節機構の解  
析。Neuro 2007、横浜、2007.

喜田亜矢、今吉格、北条雅人、北川雅史、後藤正憲、國分寛司、大澤亮介、大塚俊之、橋  
本信夫、影山龍一郎：下垂体発生におけるHes1・Hes5の機能解析。Neuro 2007、横浜、  
2007.

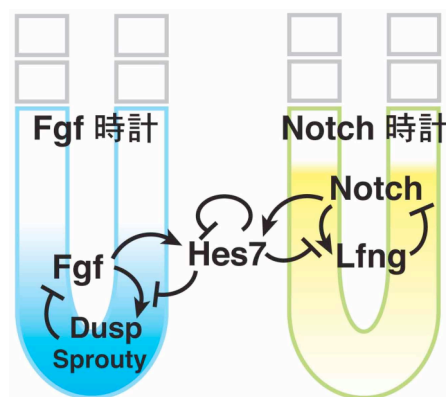
高島良樹、正水芳人、大塚俊之、山田秀一、影山龍一郎：分節時計を構成する遺伝子Hes7  
の発現のリアルタイム・イメージング。Neuro 2007、横浜、2007.

丹羽康貴、正水芳人、Liu Tianxiao、中山里果、Deng Chu-Xia、影山龍一郎：A new molecular  
mechanism of Hes7 oscillation in the somite segmentation clock. Neuro 2007、横浜、2007.

当研究室には、平成 19 年 4 月から医学研究科博士課程 1 年の都留常央と後藤正憲（脳外科）、生命科学研究科修士課程 1 年の水野浩彰と坂本雅行、理学部 4 年の劉天暁が、10 月から研究生としてマレーシア出身の Tan Sioklay が新たに加わった。一方、ポスドクの大澤亮介は米国コロラド大学に留学し、生命科学研究科の吉浦茂樹は博士取得後、理研 CDB（神戸）のポスドクになった。また、7 月下旬～9 月上旬には、トルコから Aysegul Kular が来日し、summer student として研究を行った。

5 月には、京都で第 4 回国際 bHLH Meeting を主催し、研究室総出で運営を行った。海外から 11 名の演者を招待し、活発な討論を行った。影山、小林は口頭発表をし、今吉、國分、丹羽、高島、吉浦、喜田はポスター発表を行った。Meeting 後、海外演者と一緒に京都観光をし、親交を深めた。6 月には、影山と丹羽はメキシコ・カンクーンで開催された Segmentation Meeting に参加し、発表・討論を行った。今吉は、オーストラリア・ケアンズで開かれた IBRO Satellite Meeting で口頭発表した。また、今吉は、7 月に行われた東大 130 周年記念事業 Kornberg1+3 シンポジウムでも口頭発表した。12 月には、影山、小林、下條、石井、喜田、高島、丹羽は、横浜で開かれた日本生化学会・日本分子生物学会合同大会 BMB2007 に参加し、発表・討論を行った。

当研究室のテーマは、哺乳動物の発生過程を転写因子のレベルで明らかにするというもので、レトロウイルスやエレクトロポレーションによる強制発現実験とノックアウトマウスを用いた機能喪失実験を行っている。転写因子の中でも塩基性領域-ヘリックス・ループ・ヘリックス構造を持つ因子 (bHLH 因子) に注目しており、特に抑制性 bHLH 因子 Hes を中心に解析している。Hes1 や Hes7 は 2 時間周期の生物時計として機能するが、その分子機構や役割については不明の点が多く、今後探っていく予定である。



図：分節時計の分子機構。マウス胎仔では、体節は 2 時間毎に形成される。この周期性は、Hes7 の発現オシレーションによって制御される。Hes7 の発現オシレーションは、Fgf シグナルによって始まり、Notch シグナルによって増幅されて前側に伝搬する。



### (1) 血清刺激で引き起こされる Stat, Smad, Hes1 の短周期発現オシレーション

血清刺激は、いろいろな生命現象におけるシグナル伝達機構を研究するためのモデル系としてよく使われる。血清刺激後多くの遺伝子の発現が変化することが知られているが、Notchシグナルのエフェクター分子である Hes1 のように発現オシレーションするものは知られていない。線維芽細胞を血清刺激した後、経時的に RNA を抽出し、発現オシレーションを示す遺伝子を網羅的に探索した。その結果、Hes1 以外に Stat および Smad シグナル系分子の発現が約 2 時間周期でオシレーションすることがわかった。この発現オシレーションは、Stat3 と Smad1 の周期的活性化とそれぞれの下流因子 Socs3 と Smad6 によるネガティブフィードバックより構成されていた。興味あることに、Stat シグナル系の発現オシレーションを抑制すると、Hes1 の発現オシレーションも抑制された。Hes1 は Stat シグナル系の活性化に必要であると報告されていることから、Stat-Hes1 の発現オシレーションはお互いに依存しあうことが示唆された。さらに、Hes1 の発現オシレーションが抑制されると、細胞周期が G1 で遅延した。これらの結果から、いくつかのシグナル分子は血清刺激により短周期の発現オシレーションを示すこと、中でも Stat-Hes1 の発現オシレーションは効率的な細胞増殖に重要であることが明らかになった。(生命科学研究科・吉浦茂樹)

### (2) 分節時計における Hes7 の発現オシレーションは Fgf シグナルと Notch シグナルによって協調的に制御される

分節過程では、bHLH 因子 Hes7 の発現オシレーションによって Notch シグナルのモジュレーター分子である Lunatic fringe (Lfng) の発現オシレーションが制御される。Hes7 の標的遺伝子を網羅的に探索した結果、Lfng 以外に Fgf シグナルの下流で抑制的に働く Dusp4 を同定した。Dusp4 の発現はオシレーションしており、Fgf シグナルの活性化も周期的であった。おそらく、Dusp4 の発現オシレーションによって Fgf シグナルの活性化が周期的になると考えられた。興味あることに、Hes7 を欠損すると、Lfng だけでなく、Dusp4 の発現オシレーションも消失した。したがって、Hes7 は Lfng や Dusp4 の発現オシレーションを制御することによって Notch シグナルと Fgf シグナルの周期的な活性化を同期させることが示された。一方、Notch シグナルを抑制すると、Hes7 の発現は低下して未分節中胚葉の前側では消失したが、後側では低レベルに残り、オシレーションしていた。すなわち、Notch シグナルは未分節中胚葉の後側における Hes7 の発現オシレーションには必須ではないことが明らかになった。次に、Fgf シグナルを抑制すると、まず未分節中胚葉の後側で Hes7 の発現が消失し、やがて前側でも消失した。すなわち、Fgf シグナルは Hes7 の発現オシレーションに必須であった。以上の結果から、Hes7 の発現オシレーションは Fgf シグナルと Notch シグナルによって協調的に制御され、逆に Hes7 は両シグナル系を周期的に活性化して分節過程を制御することが明らかになった(上図参照)。(医学研究科・丹羽康貴)

### (3) 下垂体発生における Hes1 と Hes5 の機能解析

下垂体の細胞分化機構を明らかにするために、神経系等の発生で重要な役割を担う bHLH

因子 Hes1 および Hes5 に注目して解析を行った。まず、発現を調べたところ、Hes1 は下垂体の前駆細胞に強く発現するが、分化の進行とともに発現低下した。一方、Hes5 は野生型マウスの下垂体では発現していなかったが、Hes1 欠損マウスの下垂体では発現がみられた。すなわち、Hes1 が無くなると、Hes5 の発現が引き起こされて Hes1 の機能が代償されることが示唆された。次に、下垂体形成における Hes1 と Hes5 の機能を明らかにするために、Hes1;Hes5 ダブルノックアウトマウスを解析することにした。Hes1 と Hes5 を欠損したマウスは胎生の早期に致死となるので、Cre-LoxP システムを利用して下垂体の領域に比較的特異的な Hes1;Hes5 ダブルノックアウトマウスを作製した。このマウスでは、下垂体前駆細胞が正常よりも早く分化すること、中葉の細胞が形成されず前葉化すること、さらに後葉が欠損することが明らかになった。以上の結果から、Hes1 と Hes5 は下垂体前駆細胞の維持し、中葉および後葉形成に重要な役割を担うことが示された。(医学研究科・喜田亜矢)