

氏 名	ひら い むら た 平 井 (村 田) かおる 郁
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 66 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	bHLH 型転写因子 Hes1 による細胞増殖機構の制御

論文調査委員 (主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 清 水 章 教 授 眞 貝 洋 一

論 文 内 容 の 要 旨

bHLH ファミリーに属する転写因子は、細胞の分化に重要な役割を果たしている。その一つである転写抑制因子 Hes1 は機能欠損によって未熟な細胞の分化が促進され、十分な増殖が行われないうちに終末分化に至ることで最終的な組織のサイズが小さくなるという現象が知られている。ところが、胸腺においては分化の促進よりも増殖抑制の形質がより強く表れている部位があり、これは条件的 Notch-1 遺伝子破壊マウスの結果とも一致していた。

このことから、Notch シグナル伝達系の他の因子の影響を排除し、直接 Hes1 自身の細胞増殖における効果を調べるために *in vitro* でのモデル系として培養細胞株を作製し実験に用いた。まず、Hes1 遺伝子を導入し過剰発現させたところ、細胞死が生じ安定発現株を得られなかった。そこでテトラサイクリン誘導発現系 (Tet-off システム) を導入した HeLa 細胞を用いて Hes1 の誘導発現を行う細胞株を構築した。この細胞を解析したところ、適度に Hes1 の発現を誘導した場合に細胞増殖が促進されることが確認された。これは細胞密度の上昇による接触抑制が緩和されたものであった。接触抑制時に上昇する遺伝子である CDK 阻害因子 p27^{Kip1} の発現解析を行ったところ、p27^{Kip1} 遺伝子が直接転写を抑制されること、その結果 G1 期における細胞周期の停止が阻害されることにより細胞増殖が促進されることが明らかとなった。また、Hes1 遺伝子破壊マウス胚の胸腺は形成不全を示すことが知られているが、この胸腺内の T 前駆細胞を解析したところ、対照の同腹仔と比較して p27^{Kip1} 遺伝子の転写量が顕著に上昇していることを確認した。

今回の研究により得られた結果から、Hes1 タンパク質は発生段階でプログラムされた前駆細胞の増殖を正方向へ直接制御する重要な分子であることが示された。さらに、Hes1 による細胞増殖促進効果の少なくとも一部は、CDK 阻害因子 p27^{Kip1} の転写レベルでの発現抑制によるものであり、Hes1 はこの調節を介し細胞周期停止を抑制することにより、細胞分化誘導に抑制的に働いていることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は相反する関係にある増殖と分化の制御機構に着目し、この2点をつなぐ分子機構を解明するために、Notch シグナル系下流の bHLH 型転写因子 Hes1 による細胞増殖における機能の解析を行った。

今回申請者が行った研究により、Hes1 タンパク質が分化の抑制のみならず細胞増殖を正方向へ制御する重要な分子として機能することが示された。さらに、Hes1 による細胞増殖促進効果の少なくとも一部は、CDK 阻害因子 p27^{Kip1} の転写レベルでの発現抑制によるものであること、およびこの調節を介して細胞周期停止を抑制することにより、Hes1 が細胞分化誘導に抑制的に働いていることを示した。さらに、Hes1 遺伝子破壊マウス胎児の胸腺、肝臓、脳などの諸臓器において定量的 PCR 法により p27^{Kip1} の遺伝子発現が実際に対照マウス胎児に比し有意に低下していることを明らかにした。以上の結果から、申請者は細胞の増殖と分化をつなぐ分子機構の一つとして Hes1 が実際の生体内で機能していることを明らかにした。

以上より、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

また平成18年2月1日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めたものである。