

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	Jan Rasmus Gerhard Freter
論文題目	Adult stem cells exhibit global suppression of RNA polymerase II serine-2 phosphorylation (成熟個体の幹細胞における RNAPol II ser2 残基リン酸化の抑制)		
(論文内容の要旨)			
皮膚や血液など成熟個体の多くの組織の維持と修復に幹細胞システムは欠かせない。このような幹細胞システムの維持には、幹細胞のもつ自己再生能と分化能が必須であるが、同時に多くの幹細胞は組織中で静止期に保たれていることが知られている。この静止期維持にニッチと呼ばれる微小環境が重要な役割を演じていることが示唆されており、近年、色素細胞幹細胞(MelSC)が、毛根のバルジ領域との相互作用を通して静止期に誘導されることが示されてきた。しかし、静止期誘導時に幹細胞側でどのような過程が進行するかについてはほとんどわかっていない。 この問題を解決するため、純化した MelSC についてマイクロアレーによる遺伝子発現の解析を行い、静止期にある MelSC において多くの house keeping 遺伝子の発現が抑制されていることが最近報告された。house keeping 遺伝子は通常恒常的に転写されている遺伝子であることを考えると、この結果は MelSC では転写全般が非特異的に抑制されている可能性を強く示唆している。本研究ではこの現象の背景にある分子メカニズムを研究する目的で、まず転写に関わる RNA polymerase II (RNAPII)の活性化状態について調べた。RNA p II は C 末にある CTD ドメインのセリン残基がリン酸化されることで活性化される。CTD-ser5 部位のリン酸化は、転写開始点に転写に必要な分子が集まってコンプレックスを形成していることを反映しており、次に CTD-ser2 がリン酸化されることにより、elongation が進む。従って、CTD-ser2,CTD-ser5 のリン酸化状態を、リン酸化特異的抗体で調べることで、RNAPII の活性化状態を調べることが出来る。 この方法で MelSC を調べたところ、MelSC では ser5 残基のリン酸化は正常と同じレベルで検出されるのに反し、ser2 残基のリン酸化はほとんど検出できないことがわかった。一方、バルジ領域以外に存在する色素細胞では、ser2,ser5 とともにリン酸化されており、ser2 残基特異的なリン酸化の抑制は静止期幹細胞に特異的であることが明らかになった。次に、MelSC で ser2 特異的にリン酸化が抑制されている原因を調べるため、リン酸化に関わる CDK9 の発現を調べたところ、MelSC のみで CDK9 の発現が抑制されていることが明らかになった。 この現象の MelSC の静止期にとっての意義を機能的に示すことは現時点では困難であるが、試験管内で増殖する色素細胞の増殖因子飢餓による細胞死が CDK9 阻害剤により抑制されることから、転写、特に elongation がグローバルに抑制されることが MelSC の静止期維持に重要であると結論した。 次に、この現象が幹細胞一般にみられるかどうかを調べる目的で、様々な幹細胞についても調べた結果、血液、皮膚ケラチノサイト、筋肉のサテライト細胞、そして精巢の精原細胞でも同じように ser2 リン酸化が抑制されていることを見いだした。以上の結果は、成熟個体における幹細胞の静止期維持に、CTD-ser2 部位のリン酸化抑制による転写、特に elongation 反応の阻害が重要であることを示している。			

(論文審査の結果の要旨)			
本研究では、毛根内色素幹細胞で転写活性がグローバルに低下している原因を追究した。リン酸化部位特異的な抗体を用いて毛根バルジ領域にある幹細胞と、基底部に存在する分化細胞を組織化学的に比較したところ、静止期にある幹細胞でRNAポリメラーゼ II (Pol II) C 末に存在するCTDドメイン serin2 残基のリン酸化が抑制されていることを見いだした。一方、同ドメインの serin5 残基はリン酸化されていることから、静止期色素幹細胞では Pol II が転写開始点にリクルートされても、serin2 残基のリン酸化が抑制され、elongation 反応が進まないことが明らかになった。このリン酸化抑制は幹細胞特異的で、より分化した色素細胞では、serin5,serin2 残基ともにリン酸化されている。次に、serin2 残基リン酸化に関わる CDK9 の発現を調べたところ、幹細胞特異的に CDK9 の発現が低下していることが明らかになった。また、遺伝的実験の結果などから CDK9 機能を抑制する機構が色素幹細胞に存在することが示唆された。以上のことから、ニッチによる静止期幹細胞の維持に serin2 リン酸化抑制を介する転写のグローバルな抑制が関与することが明らかになった。他の幹細胞でも同じようなリン酸化抑制が見られることから、この現象は静止期幹細胞一般に存在する機構であることも示唆された。 以上の研究は、静止期色素幹細胞の維持機構の解明に貢献し、幹細胞システムに関わる分子基盤の理解に寄与することが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 10 月 18 日実施の論文内容とそれに関する試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			