

|             |                                          |
|-------------|------------------------------------------|
| 氏 名         | 吉 浦 茂 樹                                  |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (生命科学)                               |
| 学 位 記 番 号   | 生 博 第 129 号                              |
| 学位授与の日付     | 平 成 19 年 9 月 25 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 | 培養細胞におけるStat、Smad、Hes1の2時間周期でのオシレーションの研究 |

論文調査委員 (主 査) 教 授 杉 田 昌 彦 教 授 眞 貝 洋 一 教 授 藤 田 尚 志

### 論 文 内 容 の 要 旨

細胞内での遺伝子発現の規則的な変化（オシレーション）としては概日リズムによる約24時間周期の発現振動が有名であるが、その他にもp53, NFkB, Hes1などの遺伝子が、外部からの刺激に応答してより短い周期でオシレーションする事が知られている。たとえば、Hes1の発現は約2時間周期でオシレーションする。これら短周期のオシレーションは、外部からの刺激を調節する事によって細胞増殖や細胞分化などに関わっているのではないかと考えられているが、未だ推測の域を出ていない。申請者はこの2時間周期のオシレーションという現象を詳しく知るため、培養細胞系においてどのような因子がオシレーションしているかという事をマイクロアレイ法を用いて探索した。その結果、新たに3つのオシレーション分子が見つかり、この中には、Jak/StatパスウェイのネガティブレギュレーターであるSocs3やSmadパスウェイのネガティブレギュレーターであるSmad6が含まれていた。これら2つのパスウェイについて詳細な解析を行ったところ、Jak/Statパスウェイではリン酸化型Stat3タンパク質もオシレーションしており、Stat3-Socs3というネガティブフィードバックループがこの2つの因子のオシレーションを生み出している事がわかった。Smadパスウェイにおいても、リン酸化型Smad1/5/8タンパク質がオシレーションし、Smad1/5/8-Smad6というネガティブフィードバックループによってこれらの因子のオシレーションが生み出されている事がわかった。また、これら2つのパスウェイのオシレーションとHes1のオシレーションとの相互関係について調べたところ、Jak/Statパスウェイのオシレーションは、Hes1タンパク質の安定性を制御することによってHes1のオシレーションを制御していることがわかった。さらに、Hes1のオシレーションをなくすと、G1期の伸長による細胞周期の伸長が観察され、オシレーションと細胞増殖との関わりが示唆された。これらのことから、細胞内では外部からの刺激に応答して様々なシグナル伝達系がオシレーションし、このオシレーションという現象が外部の刺激に対する共通の反応であり、細胞内での様々なイベントに関与していると考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞内では、外部からの刺激に応答して、様々な遺伝子の発現量が変化する。そのうち、Notchシグナルの下流因子であるHes1の発現は、外部からの刺激に応答して約2時間周期で振動を繰り返すことが明らかとなっている。このHes1の発現の振動（オシレーション）は、Hes1タンパクがhes1 mRNAの発現を抑制するという、ネガティブフィードバックループによって起こっていることが知られていた。しかし、このオシレーションの詳細な機序や生体内においてどのような機能を果たしているのかは不明であった。

本研究では、培養細胞に対して血清刺激を加えた後、経時的に遺伝子発現を調べることによって、新たに2つのシグナル伝達経路の発現がオシレーションすることを明らかにした。この2つのシグナル伝達経路、Stat-Socs経路とSmad経路は、外部からの刺激を細胞内部へと伝えることによって、様々な生命活動を制御している。これら二つの経路におけるオシレーションは、それぞれリン酸化Stat3とSocs3、リン酸化Smad1/5/8とSmad6によるネガティブフィードバックループによって

制御されていることが示された。また、Stat-Socs経路のオシレーションは、Hes1タンパクの安定性を制御することによってHes1のオシレーションを制御していた。さらに、Hes1のオシレーションは細胞の効率的な増殖に必要であった。

以上の研究結果から、主要なシグナル伝達経路の反応がオシレーションしていることが明らかとなり、このオシレーションによって、下流へのシグナル伝達のタイミングを計ったり、可塑性や多様性を生み出したりすることが示唆された。本研究は、遺伝子発現動態について新たな側面を見出したもので、シグナル伝達研究の発展に寄与すると考えられる。

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19年7月9日論文公聴会を開催し、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。