

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                      |     |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 博士（医学）                                                                                                                                                               | 氏 名 | 山中 康成 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Loss of Borealin/DasraB leads to defective cell proliferation, p53 accumulation and early embryonic lethality (Borealin/DasraB の欠損は、細胞増殖の異常と p53 の蓄積を来たし初期胚致死を引き起こす) |     |       |
| (論文内容の要旨)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                      |     |       |
| <p>神経幹細胞関連遺伝子の探索過程で新規に同定された <i>Cdca8</i> 遺伝子は、後に染色体パッセンジャー蛋白質複合体(CPC)の構成蛋白質である <i>Borealin/DasraB</i> 遺伝子 (<i>B/DB</i>) であることが判明した。細胞分裂は染色体の分配とそれに続く細胞質分裂から構成され、CPC は、分裂前期から中期にかけて染色体全長からセントロメアにその局在を変え、その後分裂後期にはスピンドル赤道面にできる中心体へ移動する、といった細胞内局在の特徴的な変化を生じることから総称されている機能蛋白質群である。マウスにおいて <i>B/DB</i> 遺伝子は胎生期には神経幹細胞を含むほぼすべての臓器に広く発現するが、後に成体では速い細胞増殖を示す精巣など限られた臓器にのみ発現し、成体内神経幹細胞ではその発現量は検出感度以下まで低下する。これまでに、ショウジョウバエにおいてその変異体は多核細胞の出現や細胞分裂の遅延を来たし異常な組織発生が生じることが知られていたが、哺乳類の発生における <i>B/DB</i> 遺伝子の役割は明らかでなかった。遺伝子改変マウスは <i>B/DB</i> 遺伝子の第1エクソンに <i>lacZ</i> レポーター遺伝子を置換して作成した。<i>B/DB</i> 遺伝子のヘテロ変異体は正常に発生し出生後も成体まで発育したが、ホモ変異体は出生時に存在しなかった。胎生期 3.5dpc のホモ変異体の細胞は、核が大小不同で不規則な形態を示すほか複数の核を有するものも生じ、それらの細胞質分裂の時期には中心体において微小管の集合異常と、Aurora B や Survivin を含む他の CPC 構成蛋白質の集積が妨げられた。これらの結果は、<i>B/DB</i> は分裂期に染色体分配および細胞質分裂を制御し、他の CPC 構成蛋白質の適正な局在を決定する機能を有することを示している。一方、このホモ変異体の 3.5dpc 胚は、体外の培養に移すと細胞増殖が停止したまま inner cell mass や trophoblast giant cell が出現せず、培養2日後に一部の細胞が TUNEL 反応陽性となった。さらに、母体子宮内のホモ変異体の 5.5dpc 胚は TUNEL 反応が陽性となり活性型 Caspase-3 が出現すると同時に p53 が集積した。また別の培養細胞株で <i>B/DB</i> 遺伝子の発現を抑制すると p53 が安定化した。これらの結果は、3.5dpc までに上記の異常を生じた <i>B/DB</i> 遺伝子欠損の細胞が 5.5dpc にアポトーシスを生じて死滅し、この細胞死に p53 が関与していることを示している。p53 の機能は大別して細胞周期の制御・DNA の修復・アポトーシスの制御があり、このうち p53 は分裂異常を来たした細胞の再分裂を抑制することも知られている。この p53 遺伝子が欠損した状態で <i>B/DB</i> 遺伝子ホモ変異体の初期胚致死が回避される可能性を考え、<i>B/DB</i> 遺伝子と p53 遺伝子の同時ホモ変異体を作成した。しかしながら、この同時ホモ変異体は 7.5dpc において母体子宮内腔に存在しなかった。このことは p53 遺伝子の欠損は <i>B/DB</i> 遺伝子欠損の初期胚致死を部分的にも救済することはなく、アポトーシスは p53 非依存性であることを示している。以上から、<i>B/DB</i> 遺伝子は、哺乳類の初期発生における細胞の増殖に必須の役割を担い、その欠損により生じる初期胚致死は p53 遺伝子との同時欠損によっても回避されることはない結論付けられる。</p> |                                                                                                                                                                      |     |       |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |  |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>染色体パッセンジャー蛋白質複合体(CPC)の構成蛋白質である <i>Borealin/DasraB</i> 遺伝子 (<i>B/DB</i>) は、ショウジョウバエにおいてその変異体は多核細胞の出現や細胞分裂の遅延を来たし異常な組織発生が生じることが知られていたが、哺乳類の発生における <i>B/DB</i> 遺伝子の役割は明らかでなかった。本研究では、<i>B/DB</i> 遺伝子を <i>lacZ</i> レポーター遺伝子で置換した遺伝子改変マウスの作製およびその変異体の解析を行った。</p> <p>その結果、B/DB は哺乳類の細胞においても分裂期に染色体分配および細胞質分裂を制御して他の CPC 構成蛋白質の適正な局在を決定する機能を有すること、<i>B/DB</i> 遺伝子欠損の細胞が 5.5dpc に死滅してこの際に p53 の発現が上昇するが、<i>p53</i> 遺伝子の欠損は <i>B/DB</i> 遺伝子欠損の初期胚致死を部分的にも救済することはなくアポトーシスは p53 非依存性であることを示した。これらより本研究の結果は、<i>B/DB</i> 遺伝子が哺乳類の初期発生における細胞の増殖に必須の役割を担い、その欠損により生じる初期胚致死は <i>p53</i> 遺伝子との同時欠損によっても回避されることはない結論付けられた。</p> <p>以上の研究は、哺乳類の初期発生における <i>Borealin/DasraB</i> 遺伝子の役割の解明に貢献し、分子発生生物学の発展に寄与するところが多い。</p> <p>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。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成20年3月28日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |  |  |  |
| 要旨公開可能日：                      年                      月                      日   以降                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |  |  |