

氏 名	山 本 典 生
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2685 号
学位授与の日付	平成 16 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	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Notch/RBP-J Signaling Regulates Epidermis/Hair Fate Determination of Hair Follicular Stem Cells. (Notch/RBP-J シグナル伝達系は毛包幹細胞からの表皮・毛の運命決定を制御する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 宮 地 良 樹 教 授 湊 長 博 教 授 伊 藤 壽 一

論 文 内 容 の 要 旨

Notch シグナル伝達系は、様々な細胞の運命決定に関わっている、進化上保存された重要な情報伝達系である。Notch とそのリガンドが結合すると、Notch の細胞内領域が切断され、核内に移行し、RBP-J と結合して標的遺伝子の転写を活性化する。哺乳類においては 4 種類の Notch が存在し、その全てが RBP-J と結合して転写を活性化する。哺乳類では、Notch シグナル系は、血液系、神経系、腎臓、膵臓などの発生に重要な役割を果たしていると言われている。皮膚においても、表皮や毛の発生の際に Notch が発現しており、また、Notch が表皮の最終分化を抑制していると言われている。

近年、成体において、表皮と毛は、毛包の立毛筋付着部に相当する Bulge に存在する毛包幹細胞から分化することが示されたが、その際に、どのような因子が毛包幹細胞からの表皮と毛との運命決定を制御するかは明らかではない。

RBP-J は哺乳類における 4 種類の Notch 全てと結合して機能するので、RBP-J 遺伝子のノックアウトは Notch シグナル伝達系の完全な遮断を行うことが出来る。しかし、RBP-J の通常のノックアウトマウスは、胎生致死となり、成体における解析を行うことができない。そこで、成体の皮膚における RBP-J の機能を解析するために、Cre/loxP システムによるコンディショナルノックアウトを行った。Cre/loxP システムは、Cre リコンビナーゼが loxP 配列で挟まれた DNA を切り出すことを利用している。

RBP-J の DNA 結合領域をコードするエクソン 6 及び 7 を loxP 配列ではさんだ floxed マウスを作成し、全身の細胞でモザイクに標的遺伝子のコンディショナルノックアウトを行うことのできる nestin-Cre トランスジェニックマウスと交配した。homozygous に RBP-J の floxed アレルと Cre トランスジーンを持つマウスは、生下時は正常であるが、生後 1 回目の毛周期を経た後、毛の消失、表皮の角化の亢進、毛包近傍での表皮嚢胞の形成が認められた。1. 嚢胞の形成は毛周期における成長期の終わった後、つまり毛包幹細胞から表皮や毛の前駆細胞が生じたあとの時期におこっていること、2. 嚢胞内の細胞における RBP-J 欠損の頻度が高いこと、3. 嚢胞内の表皮の初期分化マーカーの発現が低く最終分化マーカーの発現が高いことから、嚢胞形成が RBP-J の欠損した毛包幹細胞が表皮の運命のみをたどり、さらに表皮への分化が促進されたことによって生じたと考えられた。また、Cre リコンビナーゼが働いた部位でのみ lacZ レポーター蛋白を発現する、ROSA26 Cre reporter マウスを用いることにより、RBP-J の欠損した毛包幹細胞が表皮の運命をたどる傾向が強まり、毛の運命をたどる傾向が弱まることが確認できた。

これらのことから、Notch シグナル伝達系は RBP-J を介して毛包の Bulge に存在する毛包幹細胞から表皮と毛が生じてくる際の運命決定を制御していることが示唆される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Notch シグナル伝達系は、様々な細胞の運命決定に関わる、進化上保存された重要な情報伝達系である。哺乳類の皮膚においても、表皮や毛の発生の際に Notch が発現している。

近年、成体において、表皮と毛は、毛包のBulgeに存在する毛包幹細胞から分化することが示されたが、どのような因子が毛包幹細胞からの表皮と毛との運命決定を制御するかは明らかではない。

RBP-J遺伝子のノックアウトによりNotchシグナル伝達系の完全な遮断が可能だが、RBP-Jの通常のノックアウトマウスは、胎生致死で、成体における解析を行うことができない。そこで、本研究では成体の皮膚におけるRBP-Jの機能を解析するために、nestin-Creトランスジェニックマウスを用いて、全身の細胞でRBP-Jとをモザイクにノックアウトした。

ノックアウトマウスは、生下時の皮膚は正常であるが、生後1回目の毛周期を経た後、毛の消失、表皮の角化の亢進、毛包近傍での表皮嚢胞の形成を認めた。これらの表現型の解析により、RBP-Jの欠損した毛包幹細胞が表皮の運命をたどる傾向が強まり、毛の運命をたどる傾向が弱まることが確認できた。

この研究により、RBP-Jを介したNotchシグナル伝達系は毛包のBulgeに存在する毛包幹細胞から表皮と毛が生じてくる際の運命決定機構の1つであることが示され、毛包や表皮の生物学に多大な貢献をしてくれる。

従って、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16年1月15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。