

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	形態形成過程の四肢においてAP-1 転写因子のコンビネーションがプログラム細胞死を制御する新規メカニズムの解明
Title(English)	
著者(和文)	須田夏野
Author(English)	Natsuno Suda
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9675号, 授与年月日:2014年11月30日, 学位の種類:課程博士, 審査員:田中 幹子,駒田 雅之,梶川 正樹,鈴木 崇之,増田 真二
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9675号, Conferred date:2014/11/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	須田 夏野	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 田中 幹子	准教授	梶川 正樹	講師
	駒田 雅之	教授		
	鈴木 崇之	准教授		
	増田 真二	准教授		

本論文は、「形態形成過程の四肢において AP-1 転写因子のコンビネーションがプログラム細胞死を制御する新規メカニズムの解明」と題し、ニワトリ胚四肢の形態形成過程において、複数の AP-1 転写因子が組み合わせを変えることで、細胞死を正と負に制御することを明らかにした研究であり、六章から構成されている。

第一章では、形成過程の四肢において起こる細胞死の概略と、AP-1 転写因子の関連を説明している。四肢の原基である肢芽では細胞死が四肢を形作ること、この細胞死が BMP シグナルで制御されていることが知られる一方、BMP シグナルから細胞死へ至る経路がほとんど明らかになっていない。そこで他の器官で細胞死を制御している AP-1 転写因子が BMP シグナルと細胞死とをつなぐ候補として考えられることが述べられている。

第二章では、プログラム細胞死に関わる AP-1 転写因子の候補を選定している。まず肢芽において AP-1 転写因子群の網羅的発現解析をおこない、細胞死領域特異的に発現する *MafB* 遺伝子を候補とした。続いて肢芽における *MafB* 遺伝子の強制発現、抑制実験をおこない、*MafB* は他の AP-1 転写因子とのヘテロ二量体で機能し、その組み合わせによって細胞死を正と負のどちらにも制御している可能性を示した。さらに、*MafB* と二量体を形成できる AP-1 転写因子の中から、細胞死領域に分布しているものを網羅的発現解析から選定し、*cFos* と *cJun* を二量体のパートナー候補として挙げている。実際に *MafB*, *cFos*, *cJun* の相互作用や局在を免疫共沈降や免疫染色によって確かめ、細胞死を制御するものの候補として、*MafB*, *cFos*, *cJun* が妥当であることを示している。

第三章では、*MafB/cFos* 二量体、および *MafB/cJun* 二量体がそれぞれプログラム細胞死を制御する可能性を検証している。いくつかのコンストラクトを作成し *MafB* と *cFos*, もしくは *MafB* と *cJun* を同時に肢芽で強制発現させる実験をおこない、肢芽で細胞死を起こす細胞数が変化していることを示した。実験結果から、*MafB/cFos* 二量体は細胞死を負に、*MafB/cJun* 二量体は細胞死を正に、それぞれ制御していることが示されている。

第四章では、*MafB* や *cFos*, *cJun* の発現が細胞死をコントロールしている BMP シグナルにより制御される可能性を検証している。BMP2 を染み込ませたビーズを肢芽に移植して、*MafB*, *cFos*, *cJun* の発現を解析した結果、*MafB* が BMP シグナルの直下で発現制御を受けている可能性が高いことを見出している。

第五章では、肢芽での細胞死を促進する *MafB/cJun* 二量体の標的遺伝子を明らかにしている。この目的で、ニワトリ胚肢芽の抽出液に対して *MafB*, *Jun*, あるいは *p300* の抗体を用いたクロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) をおこなっている。ChIP-seq の解析から、*Maf*, *Jun*, *p300* が重なって有意に結合しているサイトを明らかにし、それらの結合サイト近傍に転写開始点を持つ遺伝子を探し出している。さらに、先行研究のトランスクリプトーム解析で肢芽での発現が確認されている遺伝子から、標的遺伝子候補を絞り込んでいる。ここまで残った候補のうち、細胞死の制御に関わり、且つ肢芽で発現することを確認できた遺伝子について最終的な標的遺伝子候補とした。また、ChIP-seq 解析より絞り込まれた候補には含まれなかったものの、他の系で AP-1 転写因子の標的として知られていたり、細胞死や細胞生存のプロセスにおいて鍵となる機能を持つ遺伝子についても併せて候補として挙げている。次に標的遺伝子候補について *MafB* と *cJun* を強制発現した肢芽で、*MafB/cJun* 二量体によって発現を制御されるかを調べている。その結果、*p63* および *p73* の発現が *MafB/cJun* 二量体の影響を受けることを明らかにしている。さらに、*MafB/cJun* の結合サイトを含む配列がエンハンサー活性を持つことを確認しており、*p63* と *p73* が *MafB/cJun* 二量体の直接の標的遺伝子である可能性を示している。

第六章では、AP-1 転写因子の分子生物学的な機能解析を通じて、ニワトリ胚の肢芽形成過程では *MafB/cFos* 二量体がプログラム細胞死を負に調節する一方、*MafB/cJun* 二量体が直接 *p63* や *p73* など細胞死に関わる遺伝子の発現を制御することでプログラム細胞死を正に調節していると結論付けている。結論から、ニワトリ胚の肢芽でプログラム細胞死を起こす細胞数は、*MafB/cFos* と *MafB/cJun* 二量体の存在量のバランスによって制御されていることを示唆しており、加えてニワトリ胚とマウス胚での違いから、今回着目した *MafB*, *cFos*, *cJun* 以外の AP-1 転写因子も肢芽での細胞死に関わっているかも知れないことを考察し、次回への課題としている。

以上を要するに、本論文は、複数の転写因子が組み合わせを変えることで肢芽での細胞死を正と負に制御する事を明らかにし、これまで未解明だった肢芽での細胞死を緻密に制御するための新規メカニズムを提案するものであり、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。