

論文内容の要旨

申請者氏名 西井 友教

BTB ドメインを有する zinc finger 転写因子 CIBZ は、マウス胚性幹細胞（マウス ES 細胞）を含む様々な細胞や成体の各組織に発現することが知られている。CIBZ はマウス骨格筋の幹細胞である筋芽細胞で細胞死と分化を制御する。

申請者は、マウス ES 細胞における CIBZ の機能解析をおこなった。このため、申請者は、CIBZ が恒常的に欠損した株と過剰発現した ES 細胞株を作製すると共に、CIBZ を過剰発現した株も作製した。まず、CIBZ の発現変化（欠損、発現低下、過剰発現）が、ES 細胞の未分化性状態の維持に必須でないことを、ES 細胞の形態観察及び未分化性状態を維持する転写因子 Oct3/4、Sox2 の発現に変化が見られないことで確認した。

一方、CIBZ の欠損と RNAi による発現低下は、ES 細胞の増殖を「正」に制御する転写因子 Nanog タンパク質を減少させ、CIBZ の過剰発現は Nanog タンパク質を増加させた。また、CIBZ の欠損と発現低下は ES 細胞の細胞数を減少させ、過剰発現は細胞数を増加させた。さらに、細胞増殖を BrdU の取り込みで検証した結果、同様な結果が得られた。よって、CIBZ は ES 細胞の増殖を「正」に制御している転写因子であることが判明した。

細胞周期が細胞増殖の中心的な役割を担うことが知られている。CIBZ が細胞周期に与える影響を解析した結果、CIBZ の欠損と発現低下は G1 期に占める細胞数が増加し、S 期に占める細胞数が減少した。過剰発現ではそれと逆の表現型を示した。また、CIBZ の欠損と発現低下は、ES 細胞の G1 期から S 期への移行に重要な CyclinE と Cdk2 のタンパク質の発現を低下させ、過剰発現ではそれらを増加させた。よって、CIBZ は G1 期から S 期への移行を制御することが判明した。

ES 細胞において CIBZ の発現変化による細胞増殖への影響は、Nanog の発現変化による表現型に類似している。CIBZ の欠損と発現低下は Nanog タンパク質を減少させ、過剰発現では Nanog タンパク質を増加させた。さらに、Nanog タンパク質を過剰発現した ES 細胞において CIBZ の一過性な発現低下を行うと、CIBZ の発現低下による ES 細胞の増殖低下が回復した。よって、CIBZ は Nanog タンパク質に依存して細胞増殖を制御していることが判明した。

本研究から、申請者は CIBZ が、細胞周期の G1 期から S 期への移行を制御すること、及び Nanog タンパク質に依存して細胞増殖を制御することを明らかにした。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 西井 友教

ES 細胞は、哺乳類の発生の分子メカニズムの解明や再生医療の実現へ向けた医学、及び生物学研究への理解や応用に非常に重要である。ES 細胞は「自己複製能」と「多分化能」という 2 つの特性を持っている。ES 細胞の多分化能に関しては、分化誘導方法や分化誘導因子に関する知見が多く、その詳細なメカニズムには報告が多い。

一方、ES 細胞の自己複製能の特徴に重要である細胞増殖と細胞周期については報告が少ない。それらは、シグナル経路と転写因子により制御されているが、その分子的なメカニズムに不明な点が多い。その主な理由として、マウス ES 細胞の増殖と細胞周期を制御する転写因子の報告が少ないことが挙げられる。よって、これらの過程を制御する新規の転写因子の同定は非常に重要である。

BTB ドメインを有する zinc finger 転写因子 CIBZ が、マウス ES 細胞を含む様々な細胞や成体の各組織でユビキタスに発現することが知られている。そこで、申請者は、マウス ES 細胞の増殖と細胞周期を制御する転写因子として CIBZ に着目し、CIBZ が ES 細胞の増殖と細胞周期に及ぼす影響を解明することで、CIBZ の機能として以下の新しい知見を得た。

まず、申請者は CIBZ が ES 細胞の未分化性状態の維持に必須でないこと、及び CIBZ が ES 細胞の増殖を「正」に制御している転写因子であることを明らかにした。また、CIBZ が細胞周期の G1 期から S 期への移行を制御することも判明させた。

さらに、CIBZ による ES 細胞の増殖への影響は、Nanog タンパク質に依存していることを明らかにした。そして、CIBZ の発現変化は Nanog mRNA の発現に変化を与えず、Nanog タンパク質の量に変化を及ぼすことから、CIBZ は転写後の修飾で Nanog の発現を制御していることも明らかにした。ES 細胞において転写後の修飾で Nanog の発現を調節する因子の報告は、CIBZ が初めてである。

以上のように、本論文は詳細に解明が進んでいない ES 細胞の増殖と細胞周期に関して、CIBZ が Nanog タンパク質に依存して制御しているという新たな知見をもたらすことができたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。