

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19057011

研究課題名（和文） 発生過程における細胞増殖の停止機構および細胞分化との相互作用の解析

研究課題名（英文） Coordinated regulation of cell proliferation and differentiation during development

研究代表者

竹内 隆 (TAKEUCHI TAKASHI)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：70197268

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：

キーワード：細胞周期、分化、心筋細胞、蛋白質分解、エピジェネテックス、遺伝子操作動物

## 1. 研究計画の概要

未解明である発生過程の増殖停止とその維持機構および増殖と分化との相互排他機構を解析する。このため、

- (1) 心筋細胞の増殖抑制と分化の進行を指令する Jumonji (Jmj)-サイクリン D1 カスケードの作用機序を探る。
- (2) 生涯にわたる長期的な増殖停止の維持機構を細胞周期の調節因子の機能固定化の機構ととらえ、いかなる分子機序が増殖停止の維持に必要であるかを明らかにする。
- (3) エピジェネテック制御が心筋細胞の増殖・分化制御にいかに関与するかを検討する
- (4) 増殖停止や分化制御に関与する蛋白質分解機構の解析のため、ユビキチン化酵素の同定とその機能を解明をめざす。

## 2. 研究の進捗状況

- (1) マウス変異体およびトランスジェニック (Tg)マウスを用いて、発生過程の心筋細胞でサイクリン D1 が CDK4 を活性化し、増殖を亢進するとともに分化調節因子 GATA4 を直接リン酸化、蛋白質分解を亢進させ分化を抑制すること、さらに Jmj がサイクリン D1 の転写を抑制することによりこの機構を解除することを明らかにした。この成果は、増殖が分化を抑制する分子機構、さらにその脱抑制機構を解明した。
- (2) マウス心臓の発生過程で減少するサイクリン D1 の発現が心筋細胞の増殖低下および停止の維持に関与するか否かを探るために、サイクリン D1 発現誘導 Tg マウスを作製した。そして、成体でサイクリン D1 の発現を誘導したところ、停止していた細胞周期の進行が大規模に再スタートすることを発見

した。すなわち、増殖停止にはサイクリン D1 の発現低下が重要であることを明らかにした。しかし、再スタートした細胞周期も S 期の途中で停止することを見だし、サイクリン D1 の発現低下以外にも増殖を停止する機構の存在を明らかにした。その分子機序を探ったところ、サイクリン D1-CDK4 の後に続くサイクリン E-CDK2 の高い活性化は確認できたが、さらに続くべきサイクリン A-CDK1/2 の活性化がほとんど起こらなかった。この結果、サイクリン A-CDK1/2 特異的活性阻害機構が成体では発動していると考えられ、現在、その実体を解明中である。

(3) 心筋細胞の増殖・分化制御におけるエピジェネテック制御の意義を検討するためにヒストンメチル化酵素の心筋細胞特異的コンディショナルノックアウトマウスを作製した。その結果、重篤な心臓形態形成異常が起こり、現在、その詳細を解析中である。

(4) ユビキチンリガーゼの Fbw7 のコンディショナルノックアウトマウスを作製し、種々の Cre リコンビナーゼトランスジェニックマウスと交配することによって Fbw7 の細胞周期制御およびそれ以外の機能について検討した。その結果、T リンパ球特異的 KO マウスでは胸腺が腫大し、c-Myc が蓄積して、本来の細胞周期の停止時期で増殖が停まらなことが明らかとなった。一方、骨髄特異的 KO マウスでは増殖停止細胞が減少し、Fbw7 が増殖停止維持に関与していることが明らかとなった。

## 3. 現在までの達成度

- ①当初の計画以上に進展している。  
(理由)

本研究の主題である増殖停止機構および増殖と分化との相互排他性の分子機構を当初の計画よりも速い進展で解明している。さらに当初予想していなかった CDK4 による分化因子の直接リン酸化およびその結果によりこの因子の代謝の亢進が進むことや、新規の増殖停止メカニズムの存在を示すことができ、この分野に全く新しい知見をもたらした。これらから当初の計画以上に進展していると判断する。

#### 4. 今後の研究の推進方策

- (1) CDK4 の活性化により GATA4 の蛋白質分解が進行する分子機構の解明をめざす。
- (2) サイクリン D1 発現誘導により再スタートした細胞周期が再停止する分子機構、特にサイクリン A 特異的活性阻害機構を解明する。
- (3) 心臓におけるヒストンメチル化酵素の欠損により遺伝子の発現および細胞増殖の異常と形態形成の異常の関連を探る。
- (4) Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおける種々の発生期の異常につき、病理学的に検討を行い、必要があればプロテオミクス解析を行ってその分子メカニズムを検討する。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 21 件)

- ① Shirato, H., Ogawa, S., Nakajima, K., Inagawa, M., Kojima, M., Tachibana, M., Shinkai, Y., and Takeuchi, T. A Jumonji (Jarid2) protein complex represses *cyclin D1* expression by methylation of histone H3-K9. *J. Biol. Chem.*, 284, 733-739, 2009 査読有.
- ② Matsuoka S., Oike Y., Onoyama I., Iwama A., Arai F., Takubo K., Mashimo Y., Oguro H., Nitta E., Ito K., Miyamoto K., Yoshiwara H., Hosokawa K., Nakamura Y., Gomei Y., Iwasaki H., Hayashi Y., Matsuzaki Y, Nakayama K., Ikeda Y., Hata A., Chiba S., Nakayama KL., Suda T. Fbxw7 acts as a critical failsafe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL. *Genes. Dev.*, 22: 986-91, 2008 査読有
- ③ Takahashi, M., Kojima, M., Nakajima, K., Suzuki-Migishima, R., and Takeuchi, T. Functions of a *jumonji-cyclin D1* pathway in the coordination of cell cycle exit and migration during neurogenesis in the mouse hindbrain. *Dev. Biol.* 303, 549-560, 2007 査読有

〔学会発表〕 (計 20 件)

- ① Takeuchi, T. Regulation of proliferation and differentiation in cardiac development. International Symposium on "Cell Cycle and Development" March 15, 2010, Kyoto Garden Palace (このシンポジウムを主催)

〔図書〕 (計 3 件)

- ① 竹内 隆 発生・再生過程における細胞増殖の制御機構、細胞周期フロンティア、(岸本健雄その他編集) 共立出版、印刷中、2010

〔その他〕

ホームページ

<http://toridaimedseitai.web.fc2.com/index.html>