

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 理 学 )	氏名	中 原 良 成
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目			
Control of adenohipophysis cell differentiation through temporal Notch signaling (時間的な Notch シグナルによる脳下垂体細胞分化制御)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	菊池 裕	
審査委員	教 授	小原 政信 (附属理学融合教育研究センター)	
審査委員	教 授	矢尾板 芳郎 (附属両生類研究施設)	
〔論文審査の要旨〕			
<p>動物の組織・器官は多種多様な細胞から構成されており、各種細胞への分化機構の解明は生命科学における重要な研究課題の一つである。脊椎動物の脳下垂体前葉は、6種類ホルモンを分泌する内分泌器官であり、分泌細胞の分化機構に関して集中的に研究が行われている器官として知られている。細胞分化を制御するメカニズムの中で、細胞の運命決定に関与する Notch シグナルは、ホルモン分泌細胞の分化を制御する事が報告されているが、発生時間特異的な Notch シグナルの必要性や Notch シグナルの下流因子に関しては、未だ不明な点が多く残されているのが現状である。</p> <p>本論文の著者は、脳下垂体前葉に形成されるホルモン分泌細胞の分化における Notch シグナルの機能を明らかにする事を目的に、ゼブラフィッシュ幼生を実験系として解析を行った。その結果、ホルモン分泌細胞の分化過程での Notch シグナルの機能に関して、2つの新規なメカニズムを明らかにした。</p> <p>1つ目は、ホルモン分泌細胞の分化において Notch シグナルを必要とする発生段階を明らかにした事である。ゼブラフィッシュの脳下垂体前葉においては、5種のホルモン(プロラクチン (prolactin: encoded by <i>prl</i>), 副腎皮質ホルモン (proopiomelanocortin a: encoded by <i>pomca</i>), 成長ホルモン (growth hormone: encoded by <i>gh</i>), 甲状腺刺激ホルモン (thyroid stimulated hormone, encoded by <i>tsh</i>), 糖タンパク質ホルモン<math>\alpha</math>サブユニット (glycoprotein hormones alpha polypeptides, encoded by <i>cga</i>)) を分泌する細胞に分化する事が報告されている。先行研究により、脳下垂体前葉におけるホルモン分泌細胞の分化には、受精後 12~14 時間の Notch シグナルで十分ある事が報告されていた。しかし、本論文の著者は、Notch シグナル特異的阻害剤 (Dibenzazepine) を用いて、Notch シグナルの必要な発生時間を調べた結果、受精後 16 時間以降もホルモン分泌細胞の分化に Notch シグナルが機能している事、発生時間特異的に分泌細胞分化に対する Notch シグナルの機能が異なる事を新たに見出した。</p> <p>2つ目は、Notch シグナルの下流でホルモン分泌細胞の分化を制御する因子を新たに明らかにした事である。受精後 16 時間以降に機能する Notch シグナルの下流因子を探索した結果、2つの転写制御遺伝子 <i>her4.1</i>, <i>hey1</i> が受精後 16 時間以降に発現を開始する事、それら</p>			

の発現は Notch シグナル依存的である事を見出した。新たに見出した 2 つの転写制御因子の機能を明らかにするために、モルフォリノアンチセンスオリゴを用いた翻訳阻害による *her4.1* 機能抑制体, *hey1* のノックアウト変異体, 及び *her4.1*, *hey1* の 2 重機能抑制体の作製を行った。各転写制御因子機能抑制体或いは変異体の表現型を解析した結果, Her4.1 は *pomca* (前方領域), *gh*, *prl*, Hey1 は *gh* の発現を制御する事を明らかにした。また, 2 重機能抑制体では, 単独の機能抑制体の相加的表現型しか示さなかった。この結果より, Her4.1 と Hey1 は *gh* の発現制御には同様の活性を有する事, Her4.1 は *prl*, *pomca* (前方領域) の発現制御に必要である事が明らかになった。更に, ホルモン分泌細胞分化に関して, Her4.1 の作用は Notch シグナルにより増強される事から, Notch シグナルの下流で細胞分化を制御する因子は, Her4.1, Hey1 以外にも存在している可能性が示唆された。各機能抑制体及び変異体における細胞分化の異常は, 細胞増殖・細胞死による脳下垂体前葉の形成異常が原因でない事を明らかにした。

以上本論文で発見された 2 つの新規分子メカニズム (脳下垂体前葉の Notch シグナルの必要性, Notch シグナルの下流因子 Her4.1, Hey1 によるホルモン分泌細胞の分化制御) は, 過去の知見を修正するものであるに留まらず, 脳下垂体前葉における細胞分化機構に新たな知見を与えるものである事から高く評価できる。審査の結果, 本論文の著者は博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

Nakahara Y, Muto A, Hirabayashi R., Sakuma T., Yamamoto T., Kume S., and Kikuchi, Y. (2016).  
Temporal effects of Notch signaling and potential cooperation with multiple downstream effectors  
on adenohypophysis cell specification in zebrafish  
*Genes to Cells* 21: 492–504.

参考論文

Yoshizawa, A., Nakahara, Y., Izawa, T., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M. and  
Kikuchi, Y. (2011).  
Zebrafish *Dmrta2* regulates neurogenesis in the telencephalon.  
*Genes to Cells* 16: 1097-109.