

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 大石康二

近年の研究から、細胞死は細胞内のシグナル伝達によって引き起こされる制御された現象であることが確立された。一般的に細胞の生存は細胞死シグナルの ON/OFF によって制御され、何もしない状態では生きていると思われがちである。しかしながら、培養細胞の培養液から血清を除去することで細胞死が誘導されることから、細胞は生存シグナルによって能動的に生かされていることがわかる。このように、細胞の生死は生存シグナルと細胞死シグナルのバランスによって制御されている。細胞死シグナルの解明に対して、生存シグナルの実体は十分な理解に至っていない。また、このような生存と死のシグナルが実際に生体の細胞において、どのように細胞の生死を決定しているかについての知見も不十分である。そこで本研究では、2つの系 (T 細胞 (第二章) と神経幹細胞 (第三章)) を用いて細胞の生存シグナルを分子的に明らかにすることを目的とした。また、神経幹細胞の研究から、細胞の生存促進に重要な分子が、細胞の分化や移動にも関与するという予想外の結果を得たので、第四章で述べた。

第一章では、研究の背景、既往の研究、および本研究の意義について述べた。

第二章では、T 細胞クローン選択の生死制御について検討を行った。未成熟 T 細胞は、生存/細胞死シグナルのバランスによって細胞の運命が巧妙に決定されている。T 細胞は TCR (T 細胞受容体) の反応性の違いにより、生体にとって有用な TCR のみを選択する。すなわち、適度な TCR の活性化は T 細胞の生存・分化を誘導する (正の選択)。一方、TCR が過剰に活性化されると細胞死が誘導される (負の選択)。近年の研究から、負の選択には転写因子 Nur77 の発現誘導が重要であることが明らかにされている。一方で、正の選択時には Nur77 が誘導されるのにもかかわらず、細胞はむしろ生存するという矛盾が生じている。従って、正の選択時には Nur77 の細胞死誘導能が抑制されている可能性が考えられた。PI3-キナーゼ/Akt 経路は様々な系で細胞の生存に重要であることが示されており、TCR の活性化によっても活性化される。そこで、Nur77 が Akt によって制御される可能性を検討した。その結果、Akt は Nur77 を直接リン酸化し、その転写活性・細胞死誘導能を抑制することを示した。これらの結果から、PI3-キナーゼ/Akt 経路が正の選択において Nur77 の活性を抑制することにより、TCR による生存促進に貢献する可能性を示した。

第三章では、神経幹細胞の生死制御について検討した。哺乳類の中枢神経系はニューロンとグリアから構成されるが、これらは多分化能、自己複製能をもつ神経系前駆細胞から発生する。神経幹細胞は発生過程でプログラム細胞死を起こすことが知られており、この細胞死の人為的抑制は過剰な神経系細胞を産み出し、脳の肥大を引き起こす。従って、神経幹細胞の生死は厳

密に制御されているものと考えられる。しかしながら、その制御機構はほとんど明らかではなかった。本研究では、その分子メカニズムの解明を目的とした。その結果、Notch シグナルが神経幹細胞の生存に重要であること、Bcl-2、Mcl-1 の発現上昇がこの効果に重要であることを明らかにした。これらの結果から、Notch シグナルは神経幹細胞のニューロン分化を抑制すると共に、生存を促進することによって未分化な神経幹細胞のプールを維持するのに貢献する可能性を示した。

第二章で扱った PI3-キナーゼ/Akt 経路は、細胞の生存に重要であることが明らかになっている。そこで、神経幹細胞の生存についても検討を行ったところ、この経路が分化や細胞移動に関与する結果を得たので、第四章で詳細な解析を行った。まず、PI3 キナーゼ-Akt 経路のニューロン分化への関与について検討した。その結果、ニューロン分化に PI3 キナーゼ-Akt 経路が重要であることを見出した。また、Akt は Mash1 を活性化しニューロン分化を促進する可能性を示した。次に、*in vivo* において PI3 キナーゼ-Akt 経路の重要性を検討するために、PDK1 の遺伝子破壊マウスを作製した。大脳におけるニューロン分化を検討したところ、PDK1^{-/-}ではニューロンの領域が減少することが観察された。従って、*in vivo* ニューロン分化に PI3 キナーゼ-Akt 経路が重要である可能性が示唆された。Akt 経路は、哺乳動物の細胞移動にも関与することが知られている。大脳皮質ニューロンの脳室帯から皮質板への細胞移動に PDK1 が関与するか PDK1^{-/-}マウスを用いて検討した。その結果、PDK1 がニューロン移動に必須であり、放射状グリアの突起形成に関与することが明らかになった。

本研究では、T 細胞における PI3 キナーゼ-Akt 経路、神経幹細胞における Notch シグナルが生存に重要であることが明らかとした。これらの成果は発生における疾患への予防・治療の礎となると共に、生存シグナルの細胞癌化への関与から癌細胞治療としての医学・薬学・工学分野へ貢献するものである。

よって、本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。