

論文審査の結果の要旨

氏名 小野口真広

本論分は、胎生期のマウス大脳新皮質において、神経系前駆細胞がニューロン分化する際に中心的な役割を果たす転写因子、Neurogenin1 (Neurog1) のエンハンサー領域から新規の noncoding RNA (ncRNA)、utNgn1 が発現していることを示し、utNgn1 が Neurog1 のエンハンサーの機能として重要であることを示唆したものである。本論分の結果は5つの部分から構成され、第一部では Neurog1 エンハンサー領域の DNA 配列の特徴およびヒストン修飾状態が記述されている。Neurog1 エンハンサー領域には CpG island が存在し、転写活性型のヒストン修飾である H3K4me3 や H3K9/K14Ac 修飾がされていることを示している。これらの特徴は一般的なエンハンサー領域には見られないものであり、このエンハンサー領域にプロモーターとしての活性が存在することを示唆している。第二部では、エンハンサー領域に存在する CpG island から新規の ncRNA, utNgn1 が転写されていることを示している。utNgn1 は全長およそ 1.4 knt 程度のスプライシングされていない RNA であり、poly(A) 付加されている。また、utNgn1 が核に多く存在することを示し、utNgn1 は ncRNA であると推察している。第三部では utNgn1 の発現と Neurog1 の発現パターンが中枢神経系の各領域において極めて高いことを示している。さらに神経系前駆細胞の初代培養系を用いた実験から、神経系前駆細胞がニューロン分化する過程においても utNgn1 と Neurog1 の発現に高い相関があることが示された。また、神経系前駆細胞の未分化維持に重要なシグナルである Notch シグナルを阻害しニューロン分化を誘導すると、Neurog1 とともに utNgn1 の発現も上昇することを示している。一方でニューロン分化を誘導する Wnt シグナルの下流で utNgn1 の発現が上昇することも示している。これらの結果は utNgn1 の発現と Neurog1 の発現には高い相関があることを示唆している。第四部は本論分の最も核心となる部分、すなわち utNgn1 の機能解析である。utNgn1 の機能阻害の実験から、utNgn1 は Neurog1 の十分な発現に必要であることを示した。さらに、レポーターを用いた実験から、utNgn1 領域にはエンハンサーとしての活性があること、utNgn1 の転写がそのエンハンサー活性に必要であることが示唆された。これらの結果より、utNgn1 は Neurog1 のエンハンサー活性として重要な役割を担い、Neurog1 の転写を促進する可能性が示唆された。第五部では、発生後期の神経系前駆細胞における utNgn1 の発現制御について述べられている。発生後期の神経系前駆細胞では、Neurog1 の発現は抑制されており、ニューロンではなくグリア細胞が産生される。この時 Neurog1 および utNgn1 遺伝子座では、エピジェネティックな抑制因子であ

るポリコームタンパク質によって触媒される抑制性のヒストン修飾、H3K27me3 レベルが高いことが示された。さらにポリコームタンパク質複合体の必須構成因子の1つである Ring1B コンディショナルノックアウトマウスを用いた実験から、発生後期の utNgn1 の発現はポリコームタンパク質によって抑制されることが示唆された。

以上の研究結果から、utNgn1 は Neurog1 のエンハンサーの活性として重要であり、エンハンサー活性は utNgn1 の発現制御を介して Wnt シグナルやポリコームによる発生時期依存的なエピジェネティックな制御を受けていることが示唆された。本論文はエンハンサーによる遺伝子発現制御機構に、エンハンサー由来の ncRNA の発現を介した新しい制御が存在する可能性を提示しており、哺乳類の高度な遺伝子発現制御機構の理解を深め、新しい研究領域を提起する非常に意義深いものである。また本論文によって、ポリコームの新たな役割として、ポリコームが ncRNA の発現制御を介してエンハンサーの活性と遺伝子の発現を制御することが示唆された。これはポリコームによるエピジェネティックな遺伝子の発現制御に新たな階層が存在することを示唆している。さらに、本論文は ncRNA による新たな遺伝子発現制御機構と神経発生におけるその生理的意義という観点からも、多くの示唆的なデータを提示しており、先駆的で独創的な研究として高く評価できる。

なお、本論文は理化学研究所、古関明彦グループディレクター、東京大学、平林祐介助教との共同研究であるが、全ての実験・解析・検証は論文提出者によって主体的に進められており、研究の構想を含め論文提出者の寄与が非常に大きい。

したがって博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 2000 字