

氏名	おがわ しずか 小川 静香
学位の種類	博士（医学）
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻
学位論文題目	骨格筋分化における癌抑制遺伝子 p53 類似遺伝子 p63 の役割
論文審査委員	主査 教授 永富 良一 教授 石岡 千加史 教授 小野 栄夫

論文内容要旨

癌抑制遺伝子 p53 の類似遺伝子 p63 は、p53 と構造的にも機能的にも類似性を有する一方で四肢形成や皮膚分化に重要であることが報告されている。p63 には 6 つのアイソフォームが存在し、その中で最も高い転写活性を有する TAp63 γ は骨格筋で多く発現する。筋芽細胞株 C2C12 では骨格筋分化誘導とともに TAp63 γ mRNA 量が次第に増加していく事が明らかになっているが、その役割は明らかにされていない。本研究では TAp63 が筋芽細胞の分化制御に関与している可能性を検討することを目的とした。

培養筋芽細胞株 C2C12 を用いて、骨格筋分化誘導時の TAp63 の発現の経時的変化の観察、shRNA による TAp63 ノックダウンと、Tet-on expression system により培地溶液中の doxycyclin 濃度を変化させることで TAp63 の発現量を操作できる組み換え C2C12 細胞を作成し、筋分化の各段階での強制発現させたときの影響を観察した。

TAp63 は分化の進行とともに mRNA 量が増加することが確認された。TAp63 のノックダウンにより C2C12 の分化促進が認められた。一方、TAp63 γ を強制発現させると分化誘導条件においても C2C12 の分化は全く起こらなくなった。分化誘導後に TAp63 の強制発現を行っても分化抑制はみられず、TAp63 が抑制的に作用するのは未分化状態から分化状態に移行する段階である可能性が示唆された。また、TAp63 は分化抑制因子 Id1 を介し、筋分化誘導因子である MyoD に作用して筋分化を制御している可能性が示唆された。さらに、p63 と同様 p53 類似遺伝子である p73 は、C2C12 への TAp63 γ 強制発現によって発現量が増加したことから、p73 との関与も示唆された。以上の TAp63 による骨格筋分化制御の結果から、TAp63 γ は未分化細胞を維持するために働いている可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題名.....骨格筋分化における癌抑制遺伝子 *p53* 類似遺伝子 *p63* の役割.....

所属専攻・分野名 医科学専攻・..... 運動学 分野.....

学籍番号..... 氏名 小川 静香.....

癌抑制遺伝子 *p53* 類似遺伝子 *p63* は、*p53* と構造的にも機能的にも類似性を有する一方で四肢形成や皮膚分化に重要であることが報告されている。*p63* には6つのアイソフォームが存在し、その中で最も高い転写活性を有する TAp63 γ は骨格筋で多く発現する。本研究では、筋芽細胞株 C2C12 を用いて、骨格筋分化における TAp63 γ の役割について検討を行った。

培養筋芽細胞株である C2C12 に分化誘導をかけると分化が進行するにしたがって TAp63 の発現量が徐々に増加していくことが確認された。しかし shRNA を用いて TAp63 をノックダウンしておくと筋管形成はむしろ促進され、一方発現ベクターを用いて TAp63 γ を強制発現させておくと筋管形成はほぼ完全に抑制されることがわかった。Tet-on system により TAp63 γ を Doxycyclin の添加により発現させることができる C2C12 筋芽細胞株を作成し、筋分化の経過中異なるタイミングで TAp63 γ を強制発現させた結果、筋分化が既に誘導されてから TAp63 γ を発現させても筋管形成には影響を与えず、分化前から TAp63 γ を強制発現させると筋管形成が完全に抑制されることがわかった。この筋管の分化制御には、筋誘導調節因子である Id1 や *p53* ファミリー遺伝子ある *p73* も関与している可能性が示された。本研究は、*p63* が癌抑制機能としてだけでなく、時間的制御を介して筋分化にも関わっていることを示した研究であり、今後筋疾患などに対する筋再生治療において重要な知見となることが期待される。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。