The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Biological function of proto-oncogenes, c-ski and sno during terminal differentiation of skeletal muscle.
Author(s)	市川, 幸司
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38845
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名	市川幸司（いちかわこうじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　11218　号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Biological function of proto-oncogenes, c-*ski* and *sno* during terminal differentiation of skeletal muscle. **（骨格筋最終分化における，癌遺伝子 c-*ski* および *sno* の役割）**
論文審査委員	（主査） 教授　浅野　朗 （副査） 教授　二井　将光　　教授　畠中　寛

論文内容の要旨

核蛋白質をコードする c-*ski* と，その関連遺伝子 *sno* は，筋分化制御因子群（MyoD ファミリー）以外で，非筋細胞を筋肉細胞へ分化させる活性が見つかったユニークな癌遺伝子である。例えば鳥類胚細胞での，これらの遺伝子の異所的な発現は *MyoD* や *myogenin* mRNA の発現を誘導して骨格筋細胞に分化させることや，トランスジェニックマウスでは骨格筋の特異的肥大を生じさせることが知られている。しかし，*ski* や *snoN* は，MyoD ファミリーに存在する bHLH モチーフをもたないこと，*MyoD* 等の導入によって骨格筋細胞へ分化する 10T1／2 線維芽細胞を筋肉細胞に誘導できないこと，広い組織分布を示すことなどの点から明らかに MyoD ファミリーとは区別される分子であり，実際の骨格筋の分化過程における Ski，Sno の発現や具体的な機能についてもほとんどわかっていない。

そこで本研究では，正常な骨格筋分化における *ski* および *sno* 遺伝子産物の生理機能の解明を目標に，ヒト c-*ski*, *sno* cDNA をマウス筋芽細胞株 C2 C12 に導入し，他の筋特異的遺伝子の発現に及ぼす影響を中心に解析した。その結果，Ski と SnoN は互いに独立に骨格筋分化の機構に関与していることが示唆され，特に，Ski については筋分化に必須とされる *myogenin* の転写を調節する活性のあることが明らかにされた。

まず，C2 C12 細胞で内在性 ski，*snoN* mRNA の最終分化過程における発現変化について RT-PCR により調べた。その結果，*ski* mRNA は筋芽細胞の分化の過程で発現量はほとんど変化せず，それに対して *snoN* mRNA は筋分化制御因子である *MyoD* や *myogenin* mRNA の発現上昇の開始よりも早い時期に一過性の発現増大がみられ，MyoD ファミリーよりも上流で筋分化を制御している可能性も出てきた。ノザンブロットの解析から，やはり *snoN*を導入した C2 C12 細胞で *myogenin* や筋クレアチンキナーゼ（*MCK*）の mRNA 発現量が増加していた。

次に，*myogenin* 遺伝子のプロモーター・エンハンサー領域を *CAT* 遺伝子につないだレポータ遺伝子を使って，*ski*, *sno* を導入した C2 C12 細胞内の *myogenin* プロモーター活性を調べた。結果は，*ski* の強制発現に依存して，未分化な筋芽細胞中では *myogenin* プロモータ活性は 20% まで抑制され，分化後は通常，プロモータ活性は約 12 倍上昇するが *ski* 導入によりさらに 2.5 倍以上増幅された。こうした現象は *sno* 遺伝子の発現に影響されず，*MCK* のプロモータではこれほど顕著な活性調節は起こらなかった。さらに *myogenin* プロモータの deletion アッセイの結果，Ski に依存した転写調節領域が転写開始点の上流−1102〜−184 n.t. の間に存在することがわかった。加えて，非筋肉細胞である 10T1／2 細胞ではこのような Ski 依存的な *myogenin* プロモータの活性化は観察されなかった。このことから Ski は *myogenin* のプロモーター・エンハンサー領域に働き，分化にともなって転写を負から正に調節する

活性を持つと考えられる。

最後に，*myogenin* の転写活性化に必要な領域を Ski 欠失変異株を用いて解析した結果，c-Ski の N 末領域（46-260 a.a.）と C 末領域（596-663a.a.）の両方が必要であることがわかった。この二つの領域はそれぞれシステイン残基に富む領域と，α-ヘリックス構造をつくると推測される領域に相当し，以前に報告されている Ski が未同定の補助因子を介して DNA に結合するのに必要とされる領域と重なっており今回の結果を支持するものである。以上より，Ski の筋分化における機能としてはじめて，転写調節因子として *myogenin* 転写に直接関与している事実が明らかにされた。

最終試験の結果の要旨

大阪大学学位規程第 10 条に基づき平成 6 年 2 月15日理学部 D401 教室において，関係教官出席のもと公開研究業績発表会を開き，ひきつづき試問を行った結果，合格と判定した。