The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Stress-dependent activation of p53 induces the transition to 2-cell embryo-like state of mouse ESC
Author(s)	前田, 隆寛
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72616
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　前田　隆寛　）	
論文題名	Stress-dependent activation of p53 induces the transition to 2-cell embryo-like state of mouse ESC (ストレス依存的なp53の活性化はマウスES細胞において2細胞期胚様状態への移行を誘導する)

論文内容の要旨

胚盤胞期胚の内部細胞塊から樹立される胚性幹細胞（ES細胞）は、分化多能性と正常なゲノムを長期の培養においても維持する。マウスES細胞は均一な細胞集団ではなく、遺伝子発現パターンやエピジェネティック状態が異なる細胞から構成されている。その中でも、近年、2細胞期胚に特異的な遺伝子を高発現する亜集団、2細胞期胚様（2 cell embryo-like: 2CL）細胞が全体の約1%程度の割合で存在することが報告された。2CL細胞で高発現しているZscan4は、テロメア長の維持、ゲノムの安定性、および多能性の維持に機能している。このため、2CL細胞は、ES細胞の恒常性の維持に重要な役割を担っていると考えられている。近年、2CL細胞への移行を促進する制御因子として転写因子Duxが同定された。Duxを欠損したES細胞では2CL細胞が消失し、Duxを強制発現すると半数以上のES細胞が2CL細胞へと移行することから、Duxは2CL細胞への移行のマスター制御因子であると考えられている。しかし、何がDuxの発現を誘導し、2CL細胞への移行を誘導するのかは未解明であった。そこで本研究では、2CL細胞への移行を制御する因子を新規に同定し、その分子機構を明らかにすることを目的とした。まず、2CL細胞への移行を制御する新規因子を同定するため、Zscan4レポーター遺伝子陽性集団の増加を指標とした、トランスポゾンによる変異導入スクリーニングを行った。この際、スクリーニングの効率を向上するために、半数体ES細胞を用いた。Zscan4陽性細胞が特に増加したクローンの中で破壊されていた遺伝子を解析したところ、RNA結合タンパク質遺伝子Pum3を同定した。Pum3欠損ES細胞では、2CL細胞が野生型と比較して2.8～4.0倍に増加していた。Pum3は核小体へ局在しており、Pum3欠損ES細胞においては未成熟なリボソームRNAが有意に増加していた。リボソームRNAの生合成異常は、p53の活性化を引き起こすことが知られている。Pum3欠損ES細胞では野生型ES細胞と比較してp53、およびリン酸化p53が増加していた。Pum3欠損ES細胞における2CL細胞の増加が、p53の活性化によって誘導されたのかどうかを明らかにするため、Pum3/p53二重欠損ES細胞を樹立した。その結果、Pum3/p53二重欠損ES細胞では、2CL細胞は野生型と同程度にとどまり、Pum3欠損ES細胞で認められた2CL細胞の増加は全く認められなかった。p53による2CL細胞への移行が、野生型ES細胞でも認められるかを明らかにするため、紫外線照射によってp53を活性化したところ、2CL細胞が10倍以上顕著に増加した。一方、p53欠損ES細胞では、同様の処理を行っても、2CL細胞の増加はほとんど認められなかった。次に、p53の活性化による2CL細胞への移行がどのような分子機序によるのかを明らかにするために、Dux欠損ES細胞を作製し、紫外線照射後における2CL細胞の変化を解析した。その結果、Dux欠損ES細胞では紫外線を照射しても、2CL細胞はほとんど検出されなかった。野生型ES細胞では、紫外線照射後にDuxの発現量が顕著に増加していたが、p53欠損ES細胞ではDuxの発現はほとんど変化しなかった。これらの結果から、p53の活性化により誘導される2CL細胞への移行は、Duxの活性化に依存していることがわかった。紫外線照射後のES細胞では、p53がDuxのプロモーター領域に集積しており、p53は直接Duxの発現を制御していることが示唆された。これらの結果から、ES細胞ではストレスに暴露されると、p53が活性化し、Duxの発現が誘導されることで、2CL細胞へと移行することがわかった。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　前田　隆寛　）			
論文審査担当者		(職)	氏　名
	主 査	教授	仲野　徹
	副 査	教授	佐々木　洋
	副 査	教授	深川　竜郎
	副 査	教授	甲斐　歳恵

論文審査の結果の要旨

ES細胞中には2細胞期胚と類似した転写プロファイルを有する亜集団(2-cell embryo like 細胞: 2CL細胞)が1%程度存在し、2CL細胞への移行はES細胞の恒常性維持に重要であることが報告されている。しかしながら、何をきっかけにして2CL細胞へと移行するのかは明らかにされていなかった。申請者は順遺伝学的スクリーニングにより、2CL細胞の移行を制御する新規因子としてPum3を同定した。Pum3欠損ES細胞では2CL細胞が増加し、この2CL細胞の増加はリボソームRNAの生合成不全によるp53の活性化によって引き起こされることを明らかにした。また、人為的にDNA損傷を引き起こした場合でも、p53依存的に2CL細胞が増加することを明らかにした。以上のように、申請者はストレス依存的なp53の活性化が2CL細胞への移行を促進することを明らかにし、幹細胞生物学上重要な知見をもたらした。したがって、本審査委員会は申請者に博士（理学）の学位を授与するに値すると判断した。