

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 壺井 將史

幹細胞において、個体発生に重要な発生関連遺伝子群は、発現はしていないが分化刺激に応じて活性化出来る「解除可能な抑制状態 (poised state)」にある。一方で、発生の進行に伴って幹細胞の分化能は制限され、発生関連遺伝子群は「解除できない抑制状態」によって抑制される。それぞれの抑制状態は、幹細胞が「分化能を有した状態」および「分化能を失った状態」をそれぞれ規定する重要なメカニズムと言える。近年、これらの抑制状態の形成にポリコーム群タンパク質複合体 (PcG) が中心的な働きをすることが報告されてきた。しかしながら、その重要性にも関わらず、発生過程において PcG がいかにして発生関連遺伝子の発現を抑制するかについての知見は少なくあまり理解が進んでいない。さらに、PcG がいかにして発生の時間軸に従って「解除可能な抑制状態」および「解除できない抑制状態」を形成するかもほとんどよく分かっていない。本論文では、大脳新皮質由来神経系前駆細胞（神経幹細胞）をモデル系として PcG がいかにしてターゲット遺伝子の発現抑制を引き起こすかの解明に取り組んでいる。

本論文は以下の 4 章に大別される。

第 1 章は序論であり、幹細胞の分化能制御に働く中心的なメカニズムとしてポリコーム群タンパク質複合体を挙げ、その重要性と遺伝子発現制御メカニズムについて述べている。その上で、PcG 必須構成因子である Ring1A/B によって触媒される H2AK119ub1 修飾による遺伝子発現制御に着目した経緯について述べている。

第 2 章において、ニューロン分化能が失われた発生後期（アストロサイト分化期）の神経系前駆細胞において、Ring1B によって触媒される H2AK119ub1 修飾がニューロン分化遺伝子群の発現抑制に必要なかを検討している。そのために、Ring1B の H2A ユビキチン化活性を欠損させた変異体の作製を試み、これまでに報告のない新規の変異体の作製に成功している。この変異体を、Ring1 を欠

損した発生後期の神経系前駆細胞に発現させ、ニューロン分化遺伝子群の発現抑制が回復することを見出している。このことから、発生後期において神経系前駆細胞のニューロン分化能が制限される際に、**Ring1B** が **H2A** ユビキチン化活性非依存的にニューロン分化遺伝子群の発現を抑制すると結論している。

第 3 章では、ニューロン分化遺伝子群において、**PcG** が発生時期依存的に「解除可能な抑制状態 (poised state)」と「解除できない抑制状態」を形成する分子メカニズムの解明に取り組んでいる。発生早期においては、**Ring1B** 変異体が **H2A** ユビキチン化活性依存的にニューロン分化遺伝子群の発現を抑制することを見出している。この結果と第 2 章の結果から、神経系前駆細胞のニューロン分化能が制限されるのと相関して、**Ring1B** がニューロン分化遺伝子群の発現抑制を「**H2A** ユビキチン化活性に依存した抑制状態」から「**H2A** ユビキチン化活性に依存しない抑制状態」へと転換していることを明らかにした。さらに、**H2A** ユビキチン化活性に依存しない抑制状態を形成するメカニズムとして、**PRC1** 構成因子である **Phc2** タンパク質の自己重合活性が必要であることを示している。

以上のように本論文では、大脳新皮質由来神経系前駆細胞を用いて、発生早期 (ニューロン分化期) では **PcG** がヒストン **H2A** ユビキチン化活性依存的にニューロン分化遺伝子の発現を抑制するが、発生後期 (アストロサイト分化期) になるとこの活性は必要なくなることを明らかにしている。つまり、幹細胞の分化能が制限される際に、**PcG** が遺伝子発現抑制を「解除可能な抑制状態」から「解除できない抑制状態」へと転換するメカニズムの一端を明らかにしている。この知見は、幹細胞の分化能を規定する分子メカニズムは何かという発生学上の大きな課題の解明に貢献するものである。また、近年ますます注目を集めている幹細胞を用いた再生医療において、幹細胞の分化能を制御するメカニズムの正確な記述は非常に重要な課題である。今回の知見は、iPS 細胞や ES 細胞を用いた再生医療工学の発展にも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。