

# 論文内容の要旨

申請者氏名 黒川量雄

細胞は、G1 期、S 期、G2 期および M 期の各時期で分けられる細胞周期を順次進行し、増殖する。その増殖は、外界からのシグナルによって厳密に制御されており、G1 期は外界からのシグナル（増殖ならびに増殖抑制シグナル）を受け入れ、増殖を行うかどうかを決定する唯一の時期である。さらに、増殖に留まらず、アポトーシス、老化、分化なども制御している。一方、G2/M 期は、細胞分裂によって細胞の増殖が最終的に決定する時期であり、2つの娘細胞に均一に遺伝情報を伝えるために細胞内部の機構によって正確な遺伝情報の複製、正確な染色体分離、細胞の分裂をモニターして細胞周期の進行を制御する時期である。以上のように、増殖を抑制するシグナルの作用点は2点に大別され、細胞分化や老化、TGF- $\beta$ などはG1期で特異的に作用するが、DNA 損傷、p53、cAMP、Cdk インヒビター p19<sup>ARF</sup>などはG1期、G2/M期の両方で細胞周期進行を制御する。

本研究では、cAMP、p19<sup>ARF</sup>に注目し、それらの周期進行抑制機構について、以下の点を明らかにした。

第1章では、高等動物細胞の増殖制御を担う細胞周期制御機構についてこれまでの研究の流れに沿った視点から概観し、その流れのなかで、本研究のテーマであるcAMPとp19<sup>ARF</sup>に着目するに至った背景を説明している。

第2章では、cAMPによるG2/M期進行抑制機構の解析結果が述べられている。まず、マウスマクロファージ由来の細胞を用い、cAMPによりそのG2/M期進行が阻害されることを見出した。その機構を分子レベルで明らかにするために、種々の解析を行った結果、cAMPが、G2期におけるサイクリンB1蛋白質の蓄積を遅延させるとともにG2期におけるサイクリンB1蛋白質を不安定化させることにより、サイクリンB1/Cdc2複合体の活性化を遅延させることを明らかにし、そのことがcAMPによるG2/M期進行制御の要因であることを明らかにしている。

第3章では、p19<sup>ARF</sup>によるG1期停止の分子機構についての解析を行っている。まず、p19<sup>ARF</sup>が、マウス繊維芽細胞をG1期で停止させることを見出したが、その際、p19<sup>ARF</sup>がサイクリンD1/Cdk複合体の構成を変えるとともに他のCdkインヒビターp21<sup>Cip1</sup>を誘導することにより、G1サイクリン依存性キナーゼの活性を抑制することを明らかにしている。さらに、p19<sup>ARF</sup>は、がん抑制遺伝子として知られG1/S期進行抑制活性を有するp53の不安定化因子であるMDM2と結合することにより、結果としてp53を不安定化させることを見出した。

なお、以上の知見とその意義について、各章末で考察を行っている。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 黒川量雄

本論文は、高等動物細胞の増殖制御において、外界からのシグナルを受け入れる唯一の時期である G1 期、細胞分裂による増殖を最終的に決定する時期である G2/M 期、の双方において細胞周期進行制御を担っている cAMP と Cdk インヒビター p19<sup>ARF</sup> に注目し、それぞれの因子による周期制御機構を明らかにした。

1) cAMP による G2 期進行抑制機構について。まず、マウスマクロファージ由来の細胞を用い、cAMP によりその G2/M 期進行阻害が生じることを見出した。さらに、その機構を分子レベルで明らかにするために、フローサイトメトリーを始めとする様々な細胞生物学的、分子生物学的、生化学的解析を行った結果、cAMP が G2 期におけるサイクリン B1 蛋白質の蓄積を遅延させること、同時に G2 期におけるサイクリン B1 蛋白質を不安定化させることにより、サイクリン B1/Cdc2 複合体の活性化を遅延させることを明らかにし、そのことが cAMP による G2/M 期進行抑制の要因であることを明らかにしている。このことは、細胞内セカンドメッセンジャーとして重要な生理的機能を担っている cAMP が細胞周期制御におよぼす機能の一端を明らかにしたものである。

2) p19<sup>ARF</sup> による G1 期停止の分子機構について。まず、p19<sup>ARF</sup> が、マウス繊維芽細胞を G1 期で停止させることを見出した。その際、p19<sup>ARF</sup> がサイクリン D1/Cdk 複合体の構成を変えるとともに他の Cdk インヒビター p21<sup>Cip1</sup> を誘導することにより、G1 サイクリン依存キナーゼの活性を抑制することを明らかにしている。さらに、p19<sup>ARF</sup> はがん抑制遺伝子として知られ G1/S 期進行抑制活性を有する p53 の不安定化因子である MDM2 と結合することにより、結果として p53 を安定化させることを見出した。P53 は、ヒトがんの半数以上でその異常が見い出されていることから、その細胞増殖制御機構の解明が待たれているが、本研究の結果は、そのための大きな手がかりとなることが期待できる。

以上、本論文は高等動物細胞の細胞周期制御に関わる cAMP、p19<sup>ARF</sup> の作用機構を分子レベルで明らかにし、細胞の増殖制御機構を明確に示したもので、細胞生物学の学術上、応用上貢献するところが大きい。よって、審査員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）学位論文として価値あるものと認めた。