

田根将志 学位論文審査要旨

主 査 久 留 一 郎
副主査 初 沢 清 隆
同 竹 内 隆

主論文

CDK inhibitors, p21^{Cip1} and p27^{Kip1}, participate in cell cycle exit of mammalian cardiomyocytes

(CDK阻害因子p21^{Cip1}とp27^{Kip1}は哺乳類心筋細胞の細胞周期離脱に関与する)

(著者：田根将志、池西愛子、岡山仁美、岩本典子、中山敬一、竹内隆)

平成26年 Biochemical and Biophysical Research Communications 443巻
1105頁～1109頁

参考論文

1. Coordinated regulation of differentiation and proliferation of embryonic cardiomyocytes by a jumonji (jarid2)-cyclin D1 pathway

(jumonji (jarid2)-cyclin D1経路による胎生心筋細胞の分化と増殖の協調された制御)

(著者：中島久仁子、稲川匡代、内田千晴、岡田久未子、田根将志、小島瑞代、久保田美佐江、野田真継、小川智子、白土治己、佐藤道夫、鈴木(右島)理可、日野敏昭、佐藤幸夫、北川雅敏、竹内隆)

平成23年 Development 138巻 1772頁～1782頁

2. Cell cycle regulation in mouse heart during embryonic and postnatal stages

(胎生および生後期間のマウス心臓における細胞周期制御)

(著者：池西愛子、岡山仁美、岩本典子、吉留賢、田根将志、中村和臣、大林徹也、林利憲、竹内隆)

平成24年 Development, Growth & Differentiation 54巻 731頁～738頁

3. Molecular genetic system for regenerative studies using newts

(イモリを用いた再生研究のための分子遺伝学システム)

(著者：林利憲、横谷直樹、田根将志、松本晃、茗荷あゆみ、岡本光正、竹内隆)

平成25年 Development, Growth & Differentiation 55巻 229頁～236頁

学 位 論 文 要 旨

CDK inhibitors, p21^{Cip1} and p27^{Kip1}, participate in cell cycle exit of mammalian cardiomyocytes

(CDK阻害因子p21^{Cip1}とp27^{Kip1}は哺乳類心筋細胞の細胞周期離脱に関与する)

マウスの心筋細胞は胎生期に活発に増殖し、生後14日までにそのほとんどがG1期から細胞周期を離脱する。しかし、この細胞周期離脱がどのようにして引き起こされているのかは不明であった。以前の報告で、生後心臓において、cyclin E-CDKおよびcyclin A-CDK活性の阻害がこれらの発現量の低下より先に引き起こされることを示した。本研究では、これら複合体の阻害因子であるCip/Kipファミリー蛋白質 (p21^{Cip1}、p27^{Kip1}、p57^{Kip2})の生後の心筋細胞における細胞周期離脱への関与を検証した。

方 法

実験には野生型、p21^{Cip1}ノックアウト (KO) およびp27^{Kip1}KOマウス心臓を用いた。

Cip/Kipファミリー蛋白質の発現およびcyclin-CDK複合体への結合は免疫沈降およびウエスタンブロッティングによって検出した。生後マウス心筋細胞のDNA含量の測定には、生後14日のマウス心臓から解離した心筋細胞を用いた。これらの細胞をDAPI染色し、核あたりの蛍光輝度を計測した。また、サンプリング2時間前に1匹あたり10 mg/ml EdU 50 μ lを腹腔投与し、細胞周期進行の頻度も計測した。

結 果

生後5日の心臓において、p21^{Cip1}とp27^{Kip1}の発現上昇が確認された。このことは、CDK活性が阻害される時期と一致する。また、これらはcyclin A、cyclin EやCDK2と結合していた。次に、p21^{Cip1}およびp27^{Kip1}の生後心筋細胞における細胞周期への影響をKOマウスを用いて検証した。その結果、いずれのKOマウスの心筋細胞においても、G1期における細胞周期離脱が明らかに阻害された細胞集団が認められた。まず、G1期の細胞集団が減少することが野生型との比較から明らかとなった。このことは、p21^{Cip1}KOやp27^{Kip1}KO心筋細胞でEdU陽性細胞が増加していたことと相関する。また、2核心筋細胞ではG2期の集団が増加し、単核心筋細胞ではG2期の細胞だけでなくendoreplicationによってゲノムが倍化した細胞も増加していた。以上の結果は、これらのKOマウス心筋細胞において一部の細胞集団がG1期で細胞

周期離脱せず、G2期まで細胞周期を進行させた、もしくは多倍化したことを示している。

考 察

生後心筋細胞ではp21^{Cip1}やp27^{Kip1}が細胞周期離脱に関与することが明らかとなった。しかし、p21^{Cip1}とp27^{Kip1}は互いに機能が重複していることが知られている。そのためp21^{Cip1}/p27^{Kip1}ダブルKOマウスの心筋細胞がそれぞれのKOマウスより細胞周期進行を促進させるかどうか検討の余地がある。また、細胞周期の進行がみられた2核細胞はG2期で、単核細胞はG2期および倍数化した後、再度、細胞周期を停止させた。このことは、p21^{Cip1}やp27^{Kip1}に依存しないM期進行阻害機構の存在を示唆する。

結 論

Cip/Kipファミリー蛋白質のp21^{Cip1}およびp27^{Kip1}が生後心筋細胞の細胞周期離脱に重要な役割を果たすことが明らかとなった。