

氏名	だん のつ あーん すーん DANG NGOC ANH SUONG
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第867号
学位授与の日付	平成30年3月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 バイオテクノロジー専攻
学位論文題目	Functional analysis of Jumonji/Jarid2 in <i>Drosophila melanogaster</i> (キイロショウジョウバエ Jumonji/Jarid2 の機能解析)
審査委員	(主査)教授 山口政光 教授 伊藤雅信 教授 片岡孝夫 准教授 吉田英樹

### 論文内容の要旨

本申請論文は、細胞増殖やクロマチン構造の制御など複数の機能を持つ核タンパク質として知られる Jumonji (Jmj)/Jarid2 のショウジョウバエモデルを用いた解析について、英文で記述されている。序論、第一章「ショウジョウバエ精子形成過程における Jmj のポリコーム依存的な核小体局在」、第二章「ショウジョウバエ Jmj の過剰発現は腸の幹細胞と分化細胞に異なった効果を与える」と結論から構成されている。

序論では本研究の背景と目的が述べられている。Jmj はマウスで最初に発見されたエピジェネティック制御因子で、ヒストン脱メチル化酵素が共通に持つ JmjC ドメインを持つが、酵素活性に必須なアミノ酸が欠落していることから、脱メチル化酵素活性は持たないと考えられている。マウスでは心筋細胞の増殖抑制機能を持ち、胚幹細胞分化に必須な機能を持つことが報告されている。また Jmj は、ポリコーム抑制複合体 2 (PRC2) の構成因子として同定されたが、PRC2 が関わるヒストン H3 の 27 番目のリシン残基 (H3K27) のメチル化には促進的に働くという報告と、逆に抑制的に働くという報告があり、議論が続いている。Jmj のショウジョウバエホモログ dJmj も同定されており、その突然変異は蛹期で致死になり、変態過程と斑入り位置効果などのクロマチン構造の制御に必須な機能を持つことが推測されている。また PRC2 の構成因子であることも、明らかにされているが、H3K27 のメチル化との関連や、PRC2 依存的な機能だけでなく、PRC2 非依存的な機能も提唱されており、発生過程や組織・細胞種により、異なる機能を持つことが考えられる。これらの学術的背景のもとに、申請者はショウジョウバエモデルを用いて、精子形成過程と成虫腸の幹細胞の増殖・分化過程での dJmj 遺伝子の生物学的役割に着目して研究を開始したことが述べられている。

第一章では、ショウジョウバエ精子形成過程での dJmj の機能と細胞内局在について述べられている。抗 dJmj 抗体を用いた免疫染色法により、dJmj がほとんどの精子形成過程を通じて発現し、主に核内に局在しているが、興味深いことに後期増殖期には核小体に局在することを明らかにしている。この時期にはポリコーム (Pc) も核小体に局在し、またこの局在は精子特異的な基本転写因子 tTAF 依存的に起こることが報告されており、Pc や tTAF の突然変異系統を用いた解

析から、dJmj が Pc と tTAF 依存的に核小体に局在することを明らかにしている。これらのことから、後期増殖期には、dJmj や Pc が核小体に隔離され、その結果核内の H3K27 のメチル化レベルが低下し、後期増殖期やそれに続く減数分裂期に必要な遺伝子発現を誘導すると考察している。

第二章で申請者は、ショウジョウバエ成虫腸をモデルとして腸幹細胞の増殖・分化過程での dJmj の機能について述べている。腸幹細胞は自己複製するとともに、Enteroblast (EB) 細胞を生み出し、さらに分化した Enterocyte (EC) 細胞と Enteroendocrine (EE) 細胞を産出する。ISC/EB 細胞特異的に dJmj を過剰発現させると細胞自律的に ISC/EB 細胞の増殖を誘導し、さらにそれらは正常に EC 細胞に分化した。一方分化した EC 細胞特異的に dJmj を過剰発現させると EC 細胞はアポトーシスに向かうが、同時に細胞非自律的に ISC/EB 細胞の増殖を誘導することを明らかにしている。それらの仕組みのさらに詳細な解析により、ISC/EB 細胞の細胞自律的増殖誘導には、EGFR 経路の活性化が、また非自律的増殖には、EC 細胞での JNK 経路の活性化とそれに伴う EGFR リガンドと Upd の放出による EB 細胞での JAK/STAT 経路の活性化と ISC 細胞での EGFR 経路の活性化を伴うことを見出している。一方 H3K27 のメチル化レベルと dJmj レベルは逆相関関係にあり、ISC/EB 細胞での dJmj の機能は、PRC2 非依存的であると考察している。

結論では、これら二つの研究から、dJmj が組織や細胞種によって異なる PRC2 依存的と非依存的な非常に多様な機能を持つことと、今後の研究の展望を述べている。

## 論文審査の結果の要旨

Jumonji (Jmj)/Jarid2 はマウスで最初に発見されたエピジェネティック制御因子であり、心筋細胞の増殖抑制機能や胚幹細胞分化に必須な機能を持つことが報告されている。また Jmj は、ポリコーム抑制複合体 2 (PRC2) の構成因子として同定されたが、PRC2 が関わるヒストン H3 の 27 番目のリシン残基 (H3K27) のメチル化には促進的に働くという報告と、逆に抑制的に働くという報告があり、議論が続いている。Jmj のショウジョウバエホモログ dJmj も同定されており、その突然変異は蛹期で致死になり、変態過程と斑入り位置効果などのクロマチン構造の制御に必須な機能を持つことが推測されている。また PRC2 の構成因子であることも、明らかにされているが、H3K27 のメチル化との関連や、PRC2 依存的な機能だけでなく、PRC2 非依存的な機能も提唱されている。これらの学術的背景のもとに、申請者はショウジョウバエモデルを用いて、精子形成過程と成虫腸の幹細胞の増殖・分化過程での dJmj 遺伝子の生物学的役割に着目して研究を開始した。まず申請者は dJmj がほとんどの精子形成過程を通じて発現し、主に核内に局在しているが、興味深いことに後期増殖期には核小体に局在することを明らかにした。この時期にはポリコーム (Pc) も核小体に局在し、またこの局在は精子特異的な基本転写因子 tTAF 依存的に起こることが報告されており、Pc や tTAF の突然変異系統を用いた解析から、dJmj が Pc と tTAF 依存的に核小体に局在することを明らかにした。これらのことから、後期増殖期には、dJmj や Pc が核小体に隔離され、その結果核内の H3K27 のメチル化レベルが低下し、後期増殖期やそれに続く減数分裂期に必要な遺伝子発現を誘導すると考察している。腸幹細胞は自己複製するとともに、EB 細胞を生み出し、さらに分化した EC 細胞と EE 細胞を産出する。ISC/EB 細胞特異的に dJmj を過剰発現させると細胞自律的な増殖を誘導し、それらは EC 細胞に分化した。一方分化し

た EC 細胞で dJmj を過剰発現させると EC 細胞はアポトーシスに向かうが、同時に細胞非自律的に ISC/EB 細胞の増殖を誘導することを見出した。ISC/EB 細胞の細胞自律的増殖誘導には、EGFR 経路の活性化が、また非自律的増殖には、EC 細胞での JNK 経路の活性化とそれに伴うリガンド放出による EB 細胞での JAK/STAT 経路の活性化と ISC 細胞での EGFR 経路の活性化を伴うことを見出している。一方 H3K27 のメチル化レベルと dJmj レベルは逆相関関係にあり、ISC/EB 細胞での dJmj の機能は、PRC2 非依存的であると考察している。これら二つの研究は、dJmj が組織や細胞種によって異なる PRC2 依存的と非依存的な機能を持つことを明らかにしたものであり、大きな学術的意義を持つ。

これらの研究は、申請者が筆頭著者のものを含む、査読制度のある国際科学雑誌に掲載済みの下記の論文 2 編を基礎としている。

- 1) Dang Ngoc Anh Suong, Kouhei Shimaji, Jung-Hoon Pyo, Joung-Sun Park, Hideki Yoshida, Mi-Ae Yoo and Masamitsu Yamaguchi (2018). Overexpression of dJmj differentially affects intestinal stem cells and differentiated enterocytes. *Cellular Signalling* **42**: 194-210.
- 2) Moyu Goto, Narumi Toda, Kouhei Shimaji, Dang Ngoc Anh Suong, Nicole Vo, Hiroshi Kimura, Hideki Yoshida, Yoshihiro H. Inoue and Masamitsu Yamaguchi (2016). Polycomb-dependent nucleolus localization of Jumonji/Jarid2 during *Drosophila* spermatogenesis. *Spermatogenesis* **6**(3): e1232023.

また参考論文として査読制度のある下記の国際科学雑誌 4 編に掲載されている。

- 3) Fumito Ozasa, Kazushige Morishita, Dang Ngoc Anh Suong, Seiji Miyata, Hideki Yoshida and Masamitsu Yamaguchi (2017). *Drosophila* DOCK Family Protein Zizimin Involves in Pigment Cell Differentiation in Pupal Retinae. *Cell Structure and Function* **42**(2): 117-129.
- 4) Kazushige Morishita, Dang Ngoc Anh Suong, Hideki Yoshida and Masamitsu Yamaguchi (2017). The *Drosophila* DOCK family protein Sponge is required for development of the air sac primordium. *Experimental Cell Research* **354**(2): 95-102.
- 5) Nicole Vo, Dang Ngoc Anh Suong, Natsuki Yoshino, Hideki Yoshida, Sue Cotterill and Masamitsu Yamaguchi (2017). Novel roles of HP1a and Mcm10 in DNA replication, genome maintenance and photoreceptor cell differentiation. *Nucleic Acids Research* **45**(3): 1233-1254.
- 6) Dang Ngoc Anh Suong, Dang Thi Phuong Thao, Masamitsu Yamaguchi and Tran Linh Thuoc (2014). Ubiquitin carboxyl hydrolase L1 significance for human diseases. *Protein & Peptide Letters* **21**(7): 624-630.