

## 論文の内容の要旨

氏名：鈴木正敏

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：The basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor DEC2 negatively regulates Twist1 through an E-box element (塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 転写因子 DEC2 は E-box 配列を介して抑制的に Twist1 を調整する)

塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 転写因子である Differentiated embryo chondrocyte 2 (DEC2) は、細胞分化や概日リズム調節に関与する時計遺伝子であると同時に、低酸素応答、細胞周期、細胞増殖、アポトーシスおよび癌化にも関与している。そして、E-box 配列への結合によって標的遺伝子の転写を調節することが明らかになっている。また、bHLH 転写因子の間葉系マーカーである TWIST1 は、上皮間葉転換において重要な役割を果たすとともに、間葉系細胞の分化抑制に関わることや筋形成および骨形成を含むいくつかの分化系統に関係している。現在、DNA 結合および bHLH 調節機構内における DEC2 と Twist1 の転写特性は特徴づけられておらず、それらの生物学的な標的は定義されていない。

本研究では、Twist1 のプロモーター領域で DEC2 応答配列のコンセンサス E-box : CACGTG を同定および解析した。ルシフェラーゼ・リポーター・アッセイにより、DEC2 の強制発現は正常酸素条件下および低酸素条件下で有意に Twist1 プロモーター活性を抑制した。さらに、定量リアルタイム PCR によって DEC2 の過剰発現が Twist1 mRNA 発現を抑制した。部位特異的変異誘発研究では、突然変異生成コンセンサス E-box 配列では Twist1 プロモーター活性を低下させる DEC2 の能力の減少が認められた。クロマチン免疫沈降分析により、DEC2 を介する抑制が、Twist1 プロモーター領域での E-box 結合によって主に達成されることを認めた。siRNA による DEC2 のノックダウンでは、有意に Twist1 発現の抑制を減少した。免疫染色ではマウス舌胎仔組織の発達の過程で、DEC2 と Twist1 は逆のタンパク発現パターンを示すことが認められた。

本研究では、細胞分化を含む生体内における様々な生理現象において、DEC2 が Twist1 の発現を調節することを明らかにした。DEC2 は、細胞機能を調節するメカニズムの重要な因子であると考えられる。