

論文審査の結果の要旨

氏名 森田 唯加

本論文は4章から構成されている。

第1章は概論であり、本研究を始めるに至った生物学的研究背景および関連分野の動向に関する課題を考察し、具体的に理解したい生命現象について概論を述べている。論文提出者は、未分化な細胞が如何にして組織前駆細胞へと運命づけられ維持されるのか、さらには分化細胞へと状態を変化させていくのかについて興味を抱いており、この現象の一端を解明するために、組織前駆細胞への運命決定時期に機能する制御因子を同定し、解析していくことを目的としている。興味を抱き、大学院で取り組むテーマを見出す契機となった内容である。

第2章は、概論で述べた細胞の分化運命決定機構の理解を推進する上で最も適した研究解析系の一つとして心臓発生現象に意義があることを提示し、着目した研究の手法、見出された結果・議論について述べている。本章は中胚葉性の細胞集団から心臓を構成する心筋への分化機構について述べ、未解明な点が残された心臓細胞系譜への決定機構を明らかにすることを目的とし、後述する4つの研究ステップを経て結果を詳述している。

- (1) 細胞運命を決定付ける因子を単離するスクリーニング系の設計、および候補因子として転写因子 *Sall1* の選出
- (2) *Sall1-GFP* マウスまたは *Sall1-GFP* ES 細胞を用いた *Sall1* 陽性細胞の性質理解と分化方向性の理解
- (3) 時期特異的強制発現系を用いた *Sall1* の心臓誘導因子としての機能評価
- (4) *Sall1* と協調的に機能する中胚葉性因子 *Mesp1* との関連と機能評価

具体的には、既知の心臓前駆細胞遺伝子 *Isl1-YFP* マウスを用いて遺伝子発現解析を行い、その後組織と時系列の発現変化解析を行い、*Sall1* を単離してきた。GFP を *Sall1* 遺伝子座に挿入した *Sall1-GFP* ノックインマウスを作製し、GFP

陽性細胞を選別後、選別直後の細胞性質を調べたところ GFP 陽性分画は陰性分画に比して心筋収縮遺伝子の発現が著しく低く、または発現しておらず、一方で心臓前駆細胞特異的な遺伝子に関しては顕著な発現が確認された。この GFP 陽性細胞を培養すると拍動する機能性心筋へと分化することが明らかになった。さらに、生体マウス(*Sall1creERT2;ROSA-YFP*)を用いた系譜追跡方法においても一度 *Sall1* を発現した細胞が心臓全体の構成細胞として分化していた。これらの結果から、*Sall1* は *Isl1* が制御している細胞系譜より広く心臓を構成する細胞へと分化しており、新たな心臓運命を制御する因子であると結論づけている。また、本研究結果から *Sall1* は想像していたより早期の中胚葉性細胞段階から心臓系譜をコミットしている可能性が示唆された。そこで、主要中胚葉性転写因子 *Mesp1* と *Sall1* との発現時期及び相関性について調べており、*Sall1* 陽性細胞では *Mesp1* の発現が高く維持されていた。広く中胚葉性細胞の分化を制御している *Mesp1* を発現する中胚葉性細胞から心臓系譜へと運命が限定されるメカニズムの一端を、*Sall1* を基盤として理解された。

第 3 章では、出生後も *Sall1* が機能する可能性を述べている。第 2 章において *Sall1* が心臓発生過程において心臓前駆細胞特異的に発現することが明らかになったことから、出生後においても存在するとされる心臓前駆細胞を特定する良い指標となると考えられた。興味深いことに、心臓先端部を切除すると 12 時間以内に切除領域にて *Sall1* 陽性細胞が再出現し、培養系と生体マウスを用いて一部は心筋へと分化することが確認された。さらに、一過的に *Sall1* を再発現する細胞集団は *Thy1* 陽性の線維芽細胞であり、これらの結果は線維芽細胞の可逆的な作用の一端を発見した研究結果であると考えられる。本章での結果は、心臓先端部の切除による外科的ストレスが発端となり脱分化を起こした細胞が *Sall1* を特異的に発現している可能性や、出生後内皮で発現する *Sall1* が分化転換をする可能性も残されており、今後、心臓再生過程における新たな現象が明らかになることが期待される。

第 4 章では、研究目的・課題を理解すべく設定されたモデル系を有効に利用した研究結果に基づき、本研究の総合討論として統括している。

なお、本論文第 2 章、第 3 章の一部は共同研究者である、西中村隆一氏、相賀

裕美子氏、Sylvia Evans 氏、堀田秋津氏、吉田善紀氏、小柴和子氏、塚原由布子氏、林田直子氏、小島瑞代氏、古賀千津子氏、Peter Andersen 氏、Chulan Kwon 氏、竹内純氏のサポートによるものが含まれている。しかしながら、論文提出者自ら主体となって実験系の構築、結果、解析、考察を行ったものであり論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。