

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 渡邊 朋子

本研究において論文提出者は、アフリカツメガエルにおけるプラコードとよばれる外胚葉性器官の誘導機構と関連遺伝子の解析を行った。

プラコードは発生において感覚神経関連器官の原基として作られる、外胚葉由来の組織である。原腸胚期において外胚葉は中内胚葉に裏打ちされ、BMP 阻害因子が拡散することにより BMP シグナルの濃度勾配が生じる。そして BMP シグナル非阻害領域は表皮に、BMP シグナル阻害領域は神経板に分化する。両者が接するところでは神経板境界が生じ、非神経側からは予定プラコードが、神経側からは神経堤が形成される。予定プラコードはその後、脳下垂体前葉、嗅上皮、水晶体、三叉神経、耳胞等に終分化する。提出者は、この予定プラコード形成機構に着目し、その形成に関わる新規遺伝子の同定を行った上で、そのうちの1つである、Fam46 a 遺伝子に着目し、プラコード形成における役割について詳細な解析を行った。

本博士論文は二章構成となっている。第一章では、ツメガエル外胚葉片を用いた予定プラコード細胞の誘導についての研究内容が記載されている。外胚葉細胞は BMP2/4/7 を多く発現し、単離培養すると表皮に、BMP 阻害因子を作用させると神経に分化する。そこで、BMP 阻害因子 Chordin の発現量によりシグナル強度を調節することで予定プラコード遺伝子の発現を調べたところ、BMP シグナルの軽度阻害条件で予定プラコード遺伝子の発現が上昇することを見いだした。次に誘導した予定プラコード様細胞を用いて DNA マイクロアレイ解析を行い、新規遺伝子の同定を行なった。発現が多かった遺伝子群においてクラスタリング解析を行い、さらに in situ hybridization スクリーニングを行うことで、予定プラコードで強い発現が見られた Fam46a を新規プラコード遺伝子として同定するに至った。このように、複雑なプラコード形成機構解明の一端として BMP シグナルのみの強度を調節することにより、予定プラコード様細胞を誘導出来ることを解明したことは非常に興味深い。実際、この誘導条件によって新規プラコード関連遺伝子が同定できたことは、本誘導系の妥当性を示しているといえよう。

第二章では、同定した Fam46a 遺伝子の機能解析に関する研究内容が記載されている。まず、in situ hybridization 解析によって Fam46a の時空間的発現を行ない、Fam46a は神経胚の予定プラコード、尾芽胚の各プラコードにおいて発現していることを示している。次に Fam46a の機能を探索するため、Fam46a 翻訳阻害胚および過剰発現胚を作製し、表現型観

察を行っている。翻訳阻害胚では眼の欠損および体色が暗くなる色素沈着異常が見られた一方で、過剰発現胚では、眼を含む頭部欠損および体色異常の表現型が見られた。体色に関わる色素細胞は神経堤由来であることが知られているため、神経胚期の頭部パターン変化を *in situ hybridization* 法により解析したところ、翻訳阻害により予定プラコードが縮小し、神経堤が拡大することを見出した。このことは *Fam46a* の発現が予定プラコード形成に必要とされ、一方で神経堤分化に対しては阻害的に働くことを示している。次に *Fam46a* の作用機序に関する実験が行われている。外胚葉パターンニングにおいては BMP シグナルが役割を担っており、*Fam46a* もシグナル構成因子 *Smad1* と相互作用することが報告されていることから、BMP シグナルとの関連を調べたところ、*Fam46a* の過剰発現により BMP シグナルターゲット遺伝子 *Vent1*, *Vent2* の発現上昇が見られ、更には BMP シグナル構成因子 *Smad1*, *Smad4* と *Fam46a* が結合すること、BMP シグナルターゲット遺伝子 *Id3* の転写活性化が起こることを見出した。以上の結果から、*Fam46a* は BMP シグナル構成因子 *Smad1*, *Smad4* と結合し、ターゲット遺伝子の転写を活性化することでプラコードの領域を形成することが示された。

以上本論文提出者が行った研究の結果は、新規遺伝子 *Fam46a* の解析を通し、これまで必ずしも十分に明らかになっていなかったプラコード形成の分子機構にダイレクトに踏み込んだ内容であると言える。同時に、様々な生命現象に関わることが知られている BMP シグナリングの新しい関連因子としても *Fam46a* が重要な役割を果たすことを見出したことは、一般的なシグナル伝達機構に対しても新たな知見を与えるものであり、本研究結果は極めて大きな意義がある。

以上の理由から、本審査における審査委員の総意をもって、本研究は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいと認定する。