

論文の要約

報告番号	甲 第 1215 号	氏名	結川 達也
学位論文題目	脊椎動物胚の尾芽における多分化能細胞からの神経発生機構の研究		
<p>論文の要約</p> <p>※「目的・問題提起・考察・まとめ」のように論文の構成に沿ったかたちでまとめられたもので、論文の中身が分かるもの</p> <p>脊椎動物の胚発生において、頭部より後方の体軸の伸長は胚の後端部における各種中胚葉組織、そして神経管の産生により進行する。この際には尾芽領域における幹細胞の存在が想定されているが、この部位での多分化能の維持、そして中胚葉性組織や神経性組織への発生運命の特異化を制御する遺伝子制御ネットワークの詳細は不明である。本研究では、ゼブラフィッシュでの <i>Oct4</i> 相同 Class V POU 遺伝子である <i>pou5f3</i> が体節形成期に胚の後端で継続的に発現することに着目し、体軸伸長の遺伝子機構を <i>pou5f3</i> の役割に注目して検討した。</p> <p>まず、胚後端における <i>pou5f3</i> の発現を蛍光 <i>in situ</i> hybridization (ISH) などにより詳細に検討し、原腸形成直後では、<i>pou5f3</i> は尾芽領域の主として背側で発現すること、体節形成中期になると、発現は神経管後端領域に限定され、神経管において前方で広く見られる <i>sox3</i> の発現とは相補的な関係になること、さらに後方では尾芽での <i>tbxta</i> の発現と明瞭な境界を形成することを示した。また、様々な尾芽形成遺伝子との位置関係を明らかにした。以上は、尾芽細胞は神経組織に特異化されて神経管に移行すると同時に <i>pou5f3</i> の制御下で神経分化を進行させることを示唆した。dominant-negative <i>pou5f3</i> (<i>en-pou5f3</i>) の加温誘導により <i>pou5f3</i> の機能を原腸形成終了以降の胚で阻害したところ、体軸伸長が著しく妨げられ、脊索、体節、そして神経管の形態異常が確認された。様々な時期での誘導の効果から、<i>pou5f3</i> の作用部位は体軸伸長とともに後方に移動することから、<i>pou5f3</i> が尾芽から胴尾部が新たに生じる際に必要である一方、既存の体軸の維持には不要であることを示唆した。<i>pou5f3</i> 機能阻害胚において、多能性、神経分化、中胚葉形成に関わる遺伝子の発現を ISH で検討することで、<i>pou5f3</i> は多能性維持遺伝子の発現には抑制的であること、尾芽において尾芽幹細胞からの神経細胞分化を推進する一方で、中胚葉前駆細胞への分化には抑制的に働くことを見出した。同様の結論は、<i>pou5f3</i> 変異体を用いた検討からも得られている。以上の結果は、哺乳類では多能性維持に関わるとされる PouV 遺伝子が、脊椎動物胚共通の胚構造である尾芽において幹細胞の分化制御、特に神経分化に関わることを示唆するものである。</p> <p>また、尾芽発生に関与することが示唆されている各種シグナル分泌因子の遺伝子発現について、ISH で検討し、主要な Wnt/FGF/BMP シグナル遺伝子は全て尾芽周辺で発現することが確認された。これらのシグナル分泌因子の役割について薬剤処理実験により検討し、Wnt/FGF/BMP シグナルは尾芽形成遺伝子の発現制御を通じて、尾芽発生に関与することが示唆された。</p> <p>さらに、<i>pou5f3</i> と協調して働くことが知られる <i>soxB1</i> の働きを検討するため、<i>sox3</i> および <i>sox19a</i> をゲノム編集技術により遺伝子破壊した。これらの単独のホモ変異体胚では顕著な表現型は観察されなかったが、<i>sox3</i> と <i>sox19a</i> の 2 重ホモ変異体胚において尾部の伸長異常が確認された。従って、<i>sox3</i> と <i>sox19a</i> は正常な尾部発生に必要であり、<i>sox3</i> と <i>sox19a</i> には機能的相補性があることが示された。</p> <p>以上の結果は、脊椎動物の体軸伸長における遺伝子機構の理解に新たな知見を加えるものである。</p>			