The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	アフリカツメガエル胚の頭部感覚器官形成における Xhairy2の機能解析 : 特にレンズ形成におけるその必要性について
Author(s)	村戸, 康人
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1506
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【57】

氏　　名	村　戸　康　人（むら　と　やす　ひと）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２２６９１　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科生物科学専攻
学　位　論　文　名	**アフリカツメガエル胚の頭部感覚器官形成における*Xhairy2*の機能解析：特にレンズ形成におけるその必要性について**
論文審査委員	（主査） 招聘教授　宮田　　隆 （副査） 教　授　西田　宏記　　招聘准教授　橋本　主税

論文内容の要旨

脊椎動物の頭部は多種多様な組織・器官から構成される極めて複雑な構造体である．このうち感覚器官や神経節がプラコードと呼ばれる特殊な細胞集団から形成される．多数の細胞種に分化することと，脊椎動物でしか確認されていないという事実から，プラコードは個体発生，系統発生の両方の観点から興味深い存在である．全てのプラコードは，予定表皮領域と予定神経領域の境界にあたる pre-placodal ectoderm (PPE)に由来すると考えられているが，アフリカツメガエル *Xhairy2* 遺伝子は，知られている限り，PPE で最も早くから明瞭な発現を示す．本研究は，プラコードから生じる頭部感覚器官の形成を指標として *Xhairy2* がプラコードの生成に果たす役割を明らかにすることを目的とした．*Xhairy2* 機能阻害胚の頭部を形態学的に解析したところ，網膜は形態的に正常ながら，球状レンズの顕著な形成不全が起こることが明らかになった．脊椎動物の眼はその構成要素を大きく網膜とレンズに大別できるが，網膜は脳の一部から，レンズはプラコードから形成される．眼の発生の各段階でマーカー遺伝子の発現変化を詳細に確認したが，*Xhairy2* 機能阻害は一貫してレンズ系譜の遺伝子発現を減少させた．これらの結果は *Xhairy2* がレンズ形成に特異的に必要とされることを示している．このメカニズムとして，*Xhairy2* 機能阻害による $p27^{xic1}$ の異所発現の関与が認められた．まず，$p27^{xic1}$ の異所発現を示すアポトーシスの誘導が，*Xhairy2* 機能阻害胚で見いだされた．さらに，$p27^{xic1}$ の過剰発現は *Xhairy2* 機能阻害とよく似た表現型を示し，*Xhairy2* 機能阻害の表現型は，同時 $p27^{xic1}$ を機能阻害することで部分的に緩和された．$p27^{xic1}$ は第一義的に細胞周期阻害因子であるので，*Xhairy2* 機能阻害によって，レンズ系譜の前駆細胞の数が激減していることが予想された．BrdU の取り込みを指標として，レンズ誘導が起こる領域での増殖能の変化を確認したところ，*Xhairy2* 機能阻害胚において少なくともレンズ誘導が起こる時点での増殖能には顕著な変化は見られなかった．細胞周期を直接阻害する薬剤で一定期間処理した胚においても，レンズ誘導は正常に起こっていた．これらの結果から，*Xhairy2* は $p27^{xic1}$ のもう一つの活性である分化誘導能を抑制していることが示唆された．プラコードがその運命が最初に指定されてから実際に分化が開始されるまで，かなりのタイムラグがある．この期間，如何にして組織幹細胞様の未分化性を維持できるかが，

極めて重要である．レンズ形成を指標にしたとき，*Xhairy2* が転写因子カスケードの最上流に位置するわけではなく，尚かつ *p27*^{xic1} の発現抑制を介して分化抑制に関与していることから，*Xhairy2* が PPE で先行して発現することで，未分化性が積極的に維持されているのではないかと考えられる．シグナル入力から始まる分化のカスケードは，この基本的な細胞の状態が存在して初めて，正常に機能するのではないだろうか．

論文審査の結果の要旨

村戸君の学位論文は、アフリカツメガエルの初期発生で、どのような遺伝子発現制御が行われてレンズプラコードの形成や特異化をもたらしているのかを、Xhairy2 と呼ばれる遺伝子の機能に着目して新しい切り口から見てみようというものです。方法としては、Xhairy2 の mRNA やアンチセンスモルフォリノを、既知のおおまかな予定運命地図を基礎として８割球期胚の動物極背側の片側の割球に、YFP トレーサータンパク質の mRNA とともに注入するという方法をとり、注入胚のなかで YFP が予定プラコード領域に実際に分布したものを選別して解析するという注意深い方法をとっています。

その結果として、Xhairy2 は細胞周期の制御因子である P27xic 遺伝子の発現を制御する事を突き止め、レンズプラコード領域が特異化される際には細胞がまず増殖状態にある事が必須で、その上で遺伝子ネットワークが働く事を明らかにしました。さらに、脊椎動物に特有の感覚器プラコードが進化的に生じた経緯について、imagination をかき立ててモデルを考案しています。

本研究は、実験の量と緻密さ、研究者による考察のいずれにおいても力作であり、よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値のあるものと認めます。