Osaka University Knowledge Archive

Title	Left-right asymmetric expression of the TGFβ-family member lefty in mouse embryos
Author(s)	目野, 主税
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40753
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	目　野　主　税（めの　ちから）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　13771　号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学　位　論　文　名	Left-right asymmetric expression of the TGF β-family member *lefty* in mouse embryos （マウス胚における TGFβ- ファミリーメンバー *lefty* の左右非対称な発現）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　濱田　博司 （副査） 教　授　宮崎　純一　　教　授　島田　和典

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

脊椎動物の内臓は，体腔内の位置や形状等に明白な左右差を有する。このような臓器の左右差は胎生期における一定の左右非対称な形態形成の結果獲得されるものであり，偶然の産物ではない。幾つかの証拠から，胚が左右非対称な形態を得る以前に左右軸という青写真が存在し，この左右軸に従って調和した左右非対称な形態形成が開始すると考えられてきたが，最近までこの左右軸は概念のみであって，その本体となると何も分かっていなかった。

本研究では，TGF βファミリーに属する新しいマウス遺伝子 *lefty-1* と *lefty-2*を単離し，両遺伝子が初期体節期に胚の左側で発現することを明らかにした。さらに，内臓逆位を生ずる変異マウスでの遺伝子発現様式を調べることで左右非対称な形態形成との関連について検討した。

【方法ならびに成績】

*lefty-1*は，サブトラクション法によってマウス胚性癌腫細胞株P19が未分化状態で発現し，分化誘導によって発現消失する遺伝子の一つとして単離された。得られた *lefty-1*cDNA によるゲノムサザン解析から*lefty-1* に類似した遺伝子（*lefty-2*)の存在を知り，マウスゲノムライブラリーのスクリーニングにより *lefty-1* と *lefty-2*ゲノム領域を得た。*lefty-2*はゲノムのシークエンスと *lefty-1*との比較によりエクソンを同定し，RT-PCR により8.0dpc 胚から *lefty-2*cDNA を得た。*lefty-1,2* はともに4つのエクソンから構成されており，イントロンや翻訳領域の位置も同じであった。さらに，両遺伝子はゲノム上に約30kb離れて同じ向きで並置していることが明らかになった。

Lefty-1, 2の予想されるアミノ酸配列には，TGF-βスーパーファミリー特有のシステイン残基が保存されていることから同ファミリーに属することが明らかになった。また，プロセシングモチーフのC末端側では両遺伝子は核酸レヴェルで95%以上の相同性を有していたが，他のメンバーとの相同性は低く，アミノ酸配列において他のファミリーと異なる特徴を有していた。すなわち，2量体形成に必要とされている部位のシステインを欠き，C末端システインからのアミノ酸配列が長く，さらにプロセシングモチーフを2カ所有しており切断後のアミノ酸配列長も他のメンバーの2倍以上になるという特徴である。

TGF βファミリーは分泌型の蛋白だとされている。そこで，*in vitro* における Lefty-1蛋白の存在形態を知るために，293T と Balb3T3細胞に *lefty-1*を発現させC末側に対する抗体でウェスタン解析を行った。293T細胞では細胞

上清中にはLefty-1蛋白を認めなかったが，Balb3T3細胞では細胞上清中にLefty-1蛋白が分泌されていた。

個体発生において，*lefty-1*と*lefty-2*が機能する可能性とその役割を推察するため，whole-mount in situ hybridization で両遺伝子の発現様式を調べた。*lefty-1*は初期体節期（8.0dpc）に将来の神経底板（pfp）と左側側板中胚葉（lpm）で発現した。lpm での発現は弱く，pfp での発現は胚前部で左側に偏っていた。*lefty-2* は，7.0dpcで原条よりの胚体中胚葉で発現し，いったん発現が消失した後，初期体節期に pfpと左側 lpmで発現した。pfp での発現は弱いが，*lefty-1* 同様に左側に偏っていた。*lefty-1,2*が発現する時期は，胚には形態的左右差が観察されず，その発現消失直後に心臓の looping や胚の反転といった左右非対称な形態形成が開始することになる。これは，*lefty-1,2*が左右の位置情報を担う因子であることを示唆するものである。そこで，内蔵逆位を起こす変異マウス *iv* と *inv* における *lefty-1,2*の発現を調べたところ，両遺伝子の発現が左側から右側や両側に転換しており，*iv* と *inv* の表現型と相関していることが明らかになった。従って，左右の決定には複数の遺伝子が関与しており，*iv* と *inv* 原因遺伝子は *lefty-1*,2を左側で発現させることにより左右軸を形成させるのではないかと考えられた。

【総括】

TGF β ファミリーに属する新しいマウス遺伝子，*lefty-1*と*lefty-2*を単離した。初期体節期には，*lefty-1* と *lefty-2*はそれぞれ主に左側の神経底板と左側側板中胚葉で発現した。両遺伝子の左右非対称な発現は，内蔵逆位を起こす変異マウスの *iv* と *inv* で右側や両側となることから，*lefty-1* と *lefty-2* は左右の位置情報を担う因子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

左右軸は，頭尾軸，背腹軸とともに個体発生の設計図としての根本を成し，発生生物学のみならず臨床的にも重要な問題であるに係わらず，その正体は近年まで謎に包まれていた。本研究では，TGF β ファミリーに属するマウス新規遺伝子，*lefty-1* と *lefty-2*をクローニングし，初期体節期において左神経底板と左側板中胚葉で左右非対称に発現することを明らかにした。さらに，内臓逆位を起こすマウス変異体の解析によって，*lefty-1* と *lefty-2*を *iv* と *inv* の下流に位置づけ，その発現領域が *iv* と*inv* の *situs* と相関することを明らかにすることで，*lefty-1* と *lefty-2* が左右軸の構成因子である可能性を示唆した。

lefty-1 と*lefty-2*は，左右非対称に発現する哺乳類における最初の遺伝子として報告され，本研究が左右軸という未開拓の分野に解明の糸口を与えたことは特記すべき点である。以上の理由により，本研究は学位の授与に値するものと考えられる。