

Title	コリプレッサーGrouchoによる転写制御がアフリカツメガエルの頭部神経系の領域化に必要である
Author(s)	辻, 咲織
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45647">https://hdl.handle.net/11094/45647</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	辻 (廣山) 咲 織
博士の専攻分野の名称	博士 (理 学)
学位記番号	第 19222 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 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	コリプレッサー-Groucho による転写制御がアフリカツメガエルの頭部神経系の領域化に必要である
論文審査委員	(主査) 招聘教授 宮田 隆  (副査) 教授 近藤 寿人 教授 西田 宏記 招聘助教授 橋本 主税

#### 論文内容の要旨

Groucho/Transducin-Like Enhancer of split (TLE) は、転写因子と結合することによりその転写活性化能を抑制する転写補助因子である。脊椎動物には複数の Groucho/TLE が存在し、様々な転写因子とそれぞれ特異的に相互作用することが知られている。また、予定頭部神経領域には Groucho/TLE と結合しうる転写因子が数多く存在することから、Groucho/TLE の関与する転写制御機構が脳のパターン形成に重要な機能を有することが期待されるが、現時点では、脳形成における Groucho/TLE の機能はほとんど明らかにされていない。

この Groucho/TLE による頭部神経組織の領域化機構を解明するために、内在性 Groucho/TLE の機能阻害を試みた。まず、Groucho/TLE と結合することが知られている WRPW モチーフをツメガエル胚に強制発現することによって、Groucho/TLE の機能を特異的に阻害できることを見いだした。次に、WRPW を予定頭部神経領域で過剰発現させたところ、頭部神経形成に様々な異常が生じることが明らかになった。これらの異常を詳細に解析するために、マーカー遺伝子の発現パターンの変化を *in situ hybridization* 法を用いて調べた。すると、予定間脳の腹側領域細胞が背側領域細胞として運命転換されていることが明らかになった。また、予定終脳領域の減少や神経板の側方への拡大が観察された。しかし、神経堤・予定中脳領域・予定後脳領域および底板には顕著な変化は見られなかった。発生が進むにつれて、間脳組織の拡大に伴った眼の形成不全が起こり、さらに三叉神経節の形成阻害も生じた。これらの観察結果から、Groucho/TLE は中枢神経系で行われる複数の領域形成に重要な働きを果たすことが明らかになった。

次に、どの転写因子がこれらの変異に関わっているのかを調べるため、予定頭部神経領域で発現し Groucho/TLE との結合能を有することが知られている複数の転写因子について、それぞれの変異体を作成して強制発現した際の頭部神経形成への影響を観察した。その結果として、Six ファミリー因子によって終脳領域が減少するなど因子ごとに特異的な変化がみられており、WRPW の強制発現で生じる変異は様々な転写因子による複数の制御機構が影響を受けたために起こっていることが明らかになった。それらの中でも、Xtcf-3 の変異体を用いた際には、WRPW の強制発現で見られた予定間脳の背側領域の拡大と腹側領域の減少が起こることが明らかになった。この結果は、Groucho/TLE と Xtcf-3 の複合体による標的遺伝子の転写の抑制が予定間脳腹側領域の形成に重要であることを示唆している。Xtcf-3 の標的遺伝子の発現は Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路の活性化によって増加することが知られていることから、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路が間脳の背腹軸に沿ったパターン形成に関与している可能性が考えられた。

そこで、これまでの結果に基づいて(1)間脳背側領域の形成には Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路の活性化による Tcf 標的遺伝子の発現促進が必要であり、(2)間脳腹側領域の形成には Groucho/TLE と Tcf の結合による Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路の活性阻害が必要である、というモデルを提唱した。このモデルは、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル経路の抑制に関与する因子である axil の強制発現や Xtcf-3 の様々な変異体の強制発現を行った際にも予定間脳背腹のパターン形成に変化が生じるという結果からも支持された。

### 論文審査の結果の要旨

辻さんの学位論文は、アフリカツメガエルの初期神経発生で、どのような遺伝子発現制御が行われて原基の形成や領域化をもたらしているのかを、一群の転写制御因子の抑制的な作用において co-repressor として中心的な役割を果たす Groucho タンパク質を機能阻害するという新しい切り口から解析するものである。具体的には、転写制御因子が Groucho を結合する際に使われる WRPW というアミノ酸配列モチーフが Myc-tag に繋がったポリペプチドをコードする mRNA 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取り、注入胚のなかで YFP が神経原基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る。

WRPW-myc tag の発現によって、頭部、あるいは中枢神経系に形態異常がもたらされた。WRPW-myc tag の発現が Groucho ファミリーのタンパク質の作用に影響を及ぼした結果であることは、同時にツメガエルの Groucho の一つを強制発現すると効果が打ち消されることを根拠としている。WRPW-myc tag の発現による頭部形態の異常の由来について、様々な probe による in situ hybridization を用いた詳細な分析を行い、たとえば、間脳の腹側に通常は間脳の背側にだけ存在する細胞に似た性質を持った細胞が分布していることなど、興味深い変化を同定した。さらに、以上と同様の発想にもとづいた強制発現実験を重ね、またこれまでに様々な動物種で観察されたさまざまな現象をもとにして Wnt シグナルの制御をもとにした頭部領域化のモデルを考案している。

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、博士号に十分なものと評価できる。