OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Ptfla determines horizontal and amacrine cell fates during mouse retinal development
Author(s)	藤谷, 周子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49902
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【13】

氏　　名	藤谷（田村）周　子（ふじたに　たむら　しゅう　こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　２２７２２　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 医学系研究科病態制御医学専攻
学位論文名	Ptf1a determines horizontal and amacrine cell fates during mouse retinal development （網膜発生においてPtf1aは水平細胞とアマクリン細胞の運命決定に関与する）
論文審査委員	（主査） 教　授　不二門　尚 （副査） 教　授　宮崎　純一　　教　授　田野　保雄

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕bHLH型転写因子Ptf1aは、膵臓、小脳等の器官形成において重要な機能があることが相次ぎ報告されている。Ptf1aはゼブラフィッシュの胎生期の網膜で一過性に発現することが知られるが、その役割については全く明らかにされていない。そこで、Ptf1aのマウス網膜における発現パターン、マウス網膜細胞の発生過程での役割をmouse geneticsを用いて解析した。

〔　方法ならびに成績　〕Ptf1a特異的抗体を用いた免疫染色により、Ptf1aは胎生期12.5日から生後2日のマウス網膜において一過性発現を示した。内因性Ptf1aの代わりにCreをPtf1a locusにノックインした$Ptf1a^{cre}$knock-in mouseとRosa26Rレポーターマウスとを交配したマウス$Ptf1a^{cre/+}$;Rosa26Rマウスを作製した。このマウスにおいては、Ptf1a遺伝子を活性化した細胞はCreを発現し、どの細胞でも発現する遺伝子Rosa26の制御下にあるLacZ遺伝子の発現を誘導するので、LacZ染色にて青く染まる。また、このRosa26-LacZ遺伝子は実際にPtf1aを発現した細胞の子孫細胞にまで受け継がれることより、青い細胞を追跡することによって、Ptf1aを発現した細胞がその後どのような細胞に分化したのかを解析することができる（lineage tracing）。この$Ptf1a^{cre/+}$;Rosa26Rマウスを生後3週齢においてLacZ染色すると、青く染まった細胞は、内顆粒層、視神経節層に規則正しく認められた。つぎに、各細胞マーカーとの二重染色を施し、青く染まった細胞のidentityを解析すると、Ptf1aを発現したことのある細胞（青く染まった細胞）は、その後、水平細胞とアマクリン細胞にのみ分化していることが示された。Ptf1a nullマウスは呼吸器中枢障害により生後2時間で死ぬため、生後の網膜の解析ができない。そこで、胎生期18.5日の網膜を取り出し、プレート上で器官培養をすることで生後3週齢に相当する網膜に分化する方法で解析を行った。この器官培養したWT、nullマウス網膜を各細胞マーカーの抗体で染色すると、Ptf1a発現細胞が水平細胞とアマクリン細胞へ分化した事実と対応するように、水平細胞の消失、アマクリン数が激減していた。このことから、Ptf1aはこれら両細胞の分化に必要な転写因子であることがわかる。また興味深いことに、Ptf1aを発現した後に本来は水平細胞とアマクリン細胞へと分化するはずの細胞が、Ptf1aの機能がない状態では、一部ganglion細胞へと運命転換することも示された。これまで、水平細胞とアマクリン細胞の分化に重要な役割を演じる転写因子としてはFoxn4が知られる。Foxn4 nullの網膜においてはPtf1a発現が消失し、逆にPtf1a nullの網膜ではFoxn4発現は維持されることより、Ptf1aはFoxn4の下流に位置することも示された。

〔　総　　括　〕以上より、Foxn4-Ptf1a経路は、網膜前駆細胞から、アマクリン、水平細胞への運命決定に中心的役割を演ずる経路であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、Ptf1aのマウス網膜の発生過程での役割を解析した。

①Ptf1aは、水平細胞とアマクリン細胞の前駆細胞に一過性に発現し、これらの細胞の発生・分化に必須な転写因子であることを明らかにした。②また、Ptf1a nullの網膜では本来、水平細胞とアマクリン細胞に、なるべき細胞が一部、視神経節細胞に運命転換することも示された。③水平細胞とアマクリン細胞の分化に必須の役割を演じる、Foxn4遺伝子の null mutantの 網膜では、Ptf1a発現が消失することより、Ptf1aはFoxn4の下流にあることが示された。以上より、Foxn4-Ptf1a経路は、網膜前駆細胞から、アマクリン、水平細胞への運命決定に中心的役割を演ずることが示唆された。

網膜の再生治療の実現化の上でも、網膜の発生分化のメカニズムを解明する研究は重要と考えられ、Ptf1aの網膜発生においての重要な役割を初めて明らかにした本論文は、大阪大学博士学位に値すると考える。