

Title	原腸陥入期において胚盤葉上層に発現するGroupB1 Sox遺伝子による中胚葉産生の制御
Author(s)	吉田, 恵美
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59347
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【81】

氏名	よし だ めぐ み 吉 田 恵 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学位記番号	第 25446 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	原腸陥入期において胚盤葉上層に発現するGroupB1 Sox 遺伝子による中胚葉産生の制御 (Epiblastic B1 Sox-dependent regulation of mesodermal precursor production during gastrulation)
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 寿人 (副査) 教授 仲野 徹 教授 濱田 博司 教授 平岡 泰

論文内容の要旨

神経板は胚発生において最初に運命づけられる組織である。これまでの両生類での知見から、神経板は外胚葉として成立した組織から生み出されると考えられてきた。しかし、羊膜類の後部神経板は、全く異なる機構により生み出されることが最近の研究で明らかにされつつある。胚の後方は、神経系原基細胞と中胚葉原基細胞が連続的に生み出され、付加されることによって伸長する。その運命は、胚発生初期に一度に運命づけられるのではなく、原条の両側の胚盤葉上層

(CLE: Caudal lateral epiblast) に存在する神経系原基細胞と中胚葉原基細胞の共通の前駆体(体軸幹細胞: Axial stem cells) から連続的に生み出される。しかし、CLEからそれぞれの細胞へと分化を運命づける分子機構はまだ明らかになっていない部分が多い。本研究は、CLEから神経系原基細胞と中胚葉原基細胞を運命づける分子機構を明らかにすることを目的とした。

SOX2は神経系原基細胞において、その誕生と一致して発現する転写因子である。Sox2のenhancer N1はCLEにおいて活性を持つ。このことから、CLEにおいてenhancer N1が活性化されSox2が発現することが、CLEに存在する体軸幹細胞から神経系原基細胞を運命づけるという仮説を立て、enhancer N1を欠失したマウス胚を作成した。N1(-/-)胚は、体軸幹細胞から生み出された細胞でSox2発現を失い、胚後部の神経系が形成されないことが期待された。しかし、N1(-/-)胚は、胚の最後端でのSox2の発現を失ったが、Nodeよりも前方ではSox2の発現が開始され、成体まで正常に発生が進んだ。N1(-/-)胚において、Sox2の発現を失った領域は、同じGroup B1 Soxに属するSox3が発現しており、その発現がSox2発現の欠失を補完した可能性が示唆された。そこで、enhancer N1とSox3のダブルノックアウトマウスを作成した。しかし、WKO胚は、胚の最後端でのGroup B1 Soxの発現を完全に失ったにも関わらず、胚の後方は正常に発生した。N1(-/-)胚とWKO胚が、一見正常に発生したのは、enhancer N1の後に活性化されるenhancer依存的に開始されたSox2の発現によって、Group B1 Sox発現の欠失が補完されたためと考えられた。

Sox2とSox3はCLEにおいて弱い発現を持つ。そのSox活性の機能的な意味を明らかにするために、N1(-/-)胚、Sox3KO胚、WKO胚の最後端における影響を組織学的に詳細に調べた。Sox3KO胚とWKO胚において、CLEから生み出された中胚葉原基細胞は顕著に増加しており、7体節期以降では、その増加によってCLEの細胞数が減少していることが分かった。7体節期以降では、N1(-/-)においても中胚葉原基細胞が増加した。さらに、中胚葉細胞の増加の結果、野生型胚に比べて大きい体節が形成され、場合によっては、側板と体節との間に余分な体節組織を形成した。このように、Group B1 SoxのCLEにおける発現は、CLEから中胚葉原基細胞の産生を制御する役割を果たすことを明らかにした。さらに、Group B1 SOXの下流で働き、中胚葉原基細胞の産生を制御する遺伝子の候補を、マイクロアレイ解析によって野生型胚と変異体の間で比較し同定した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、胚の後端部の伸長を制御する機構の解明を目指してはじめられたものである。Sox2遺伝子発現を神経板後端で活性化するN1エンハンサーのノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析する作業を手始めに、N1エンハンサーとSox3遺伝子の2重変異体にまで研究対象を広めた。申請者はその注意深い観察によって、神経板でのSox2/3の強い発現が始まる前の段階の胚盤葉上層(エピプラスト)後部側方領域で、Sox2/3が低レベルで発現されること、その低レベルでの発現が失われると、中胚葉前駆体の産生が増強されて体節形成の異常をもたらすことを見出し、Sox2/3(B1 Sox)遺伝子発現がもつ新しい制御機能を明らかにした。胚盤葉上層後部側方領域での遺伝子発現が、Sox2/3の発現の喪失によってどのように変化するかをマイクロアレイを用いて解析し、変異体の表現型が、胚盤葉上層の上皮-間葉変換の制御の異常に起因することを予想した。

本研究は、マウス個体の遺伝子操作を駆使して、これまでは未知であった原腸陥入期の制御機構の一つを明らかにしたものであり、学位に値するものと認める。