

Title	内耳原基の発生においてSall4とSox8がニワトリSox3遺伝子発現を協調的に制御する
Author(s)	岡本, 優
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61870
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

氏名 (岡本 優)

論文題名

内耳原基の発生においてSall4とSox8がニワトリSox3遺伝子発現を協調的に制御する
 Sall4 and Sox8 transcription factors cooperate in the regulation of the chicken Sox3 gene during the otic placode development

論文内容の要旨

脊椎動物の体は、多種多様な細胞からなりたっている。それらの細胞種の多くが、個体発生において細胞増殖と共に適切な時空間で起こる細胞分化によって生み出される。この過程で重要な役割を担うのが転写調節因子であり、発生において適切な時空間で細胞分化を制御している。この制御機構を明らかにすることが発生を理解する上で重要である。聴覚、平衡覚にとって重要な役割を果たす内耳の基となる内耳プラコードは、頭部外胚葉の特定領域に形成される。その仕組みは断片的な知見が得られているものの、全容は明らかになっていない。

転写調節因子は、標的となる遺伝子のエンハンサーに結合して遺伝子発現を制御することで、細胞分化を制御している。ニワトリ内耳発生において初期段階から発現される転写調節因子として知られる*Sox3*遺伝子領域の周辺で、内耳特異的に機能するD3エンハンサーが同定された。このD3エンハンサーは、ニワトリ胚において内耳プラコードが形成される段階から活性化され始める。さらに、内耳プラコード全体でエンハンサー活性を示し、その後の耳胞でも維持される。D3エンハンサーの内耳特異的な活性化機構を解析すれば、エンハンサー上で動いている初期内耳発生の仕組みの一端を明らかにできると考えた。

5 kbのD3エンハンサーのDNA領域を幾つかに断片化し、エンハンサー活性を調べた。内耳特異的にエンハンサー活性を示した1.5 kbの断片を、1.5-kb *Otic1*エンハンサーと名付けた。*Otic1*エンハンサーをさらに断片化した結果、181 bpのDNA領域が*Otic1*エンハンサー活性を担うことが明らかになった。

181-bp *Otic1*エンハンサーに、様々な欠失変異や塩基置換変異を導入して、*Otic1*エンハンサーを内耳原基に限定して活性化する転写調節因子を解析した。その結果、Sall4とSox8が、協調的に*Otic1*エンハンサーを活性化することが明らかになった。この活性化は、Sall4とSox8が共に発現される内耳原基と頭部神経堤の双方で起こる。*Otic1*エンハンサーの配列にはCAGGTG配列が含まれているが、これを欠失させると、頭部神経堤でのエンハンサー活性が上昇した。この配列は転写抑制因子として知られる δ EF1/Zeb1、Sip1/Zeb2、Snail2/Slugの結合配列と一致している。また、これらの転写調節因子は、頭部神経堤で発現されるが、内耳原基では発現されない。これらの転写調節因子群によって、頭部神経堤でのエンハンサー活性が抑制され、内耳に限局したエンハンサー活性が生み出されていることが考えられる。

*Otic1*エンハンサーは、鳥類と爬虫類の一部で保存され、哺乳類や魚類では保存されていない。しかし、レポーター遺伝子と共に*Otic1*エンハンサーをマウスES細胞に導入し、内耳分化させると、レポーター遺伝子の発現が観察された。また、ゼブラフィッシュ胚に導入すると、内耳原基でレポーター遺伝子の発現が観察された。この結果は、エンハンサーそのものが保存されていなくとも、Sall4とSox8の協調的な作用が初期内耳発生を制御する仕組みが、哺乳類から魚類まで広く保存されていることを示していると考えられる。

(記入例)

様式3

論 文 内 容 の 要 旨

※原則、A4版でタイプ打ち(9ポイント MS明朝体)で作成し提出してください。

氏 名 (○ ○ ○ ○) ←申請者氏名を記入してください	
論文題名	(1) 題名が外国語で表記の場合は、日本語訳を()内に付して記入してください。 (2) 論文目録(様式2)の題名と一致させてください。 (3) 論文題名は大文字・小文字、字体も含めて論文自体のとおりとしてください。
論文内容の要旨	
以下本文	
※この論文内容の要旨は学位授与後3か月以内にインターネットで公表されます。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (岡本 優)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
主 査	教授	佐々木 洋
副 査	教授	近藤 滋
副 査	教授	八木 健
副 査	招聘教授	近藤 寿人

論文審査の結果の要旨

内耳は、聴覚と平衡感覚を司る重要な器官であり、この部位に障害を受けると、聴覚障害が起きる。

通常、内耳は自律的に再生しないので、聴覚障害の根本的な治療には、再生医療により、新たに内耳を作り出すことが必要とされている。そのためには内耳の発生過程を詳しく知る必要があるが、内耳の後期発生に関してはかなりの知見があるのに対し、ごく初期の、内耳ブラコードが出現する時期の発生分化に関する知見は非常に乏しい。岡本優氏は内耳の基となる内耳ブラコードの発生に必須の*Sox3*遺伝子の転写調節を詳細に解析し、特異的な遺伝子発現を引き起こすエンハンサー配列を特定、このエンハンサーが、2つの領域に分けられ、1つが正の、もう1つが負の効果を持つことを明らかにした。また、正の効果を持つ部分の上位遺伝子は*Sal14*、*Sox8*であるとする証拠を得た。負の効果を持つ配列にはCACCTGという δ EF1/Zeb1、Sipl/Zeb2、Snail2/Slugの結合配列が存在し、この配列を欠失させると頭部神経堤での転写が上昇する。また、これらの調節因子は頭部神経堤でのみ発現しており、*Sox3*が内耳に限局して発現する原因となっている。

Otic1エンハンサーは、鳥類、爬虫類には保存されているが、魚類、哺乳類には存在しない。しかし、EGFPにつなぎマウスを導入してみたところ、興味深いことに、Otic1エンハンサーが内耳特異的に活性を持つことが明らかとなった。このことは、Otic1エンハンサーが存在しなくても、それを特異的に活性化する転写因子群のシステムが維持されていることを意味する。

以上の結果は、内耳細胞をESやiPSから再生させる今後の研究に対して重要な情報を与えると考えられるため、博士授与に値すると判定した。