

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 早田匡芳

早田匡芳氏は「ツメガエル初期中胚葉及び内胚葉形成に関わる遺伝子に関する分子的研究」において下記のような優れた結果を得ている。

早田氏は、大きく分けて二つの成果を得ている。一つは、中胚葉形成に関わる新規遺伝子 *Xbra3* の機能に関する分子生物学的解析であり、もう一つは、シュベーマンオーガナイザーと内胚葉領域に発現する新規遺伝子 *Mig30* の機能に関する分子生物学的解析である。

アクチビンによって誘導されて中胚葉や内胚葉形成に関わる新規遺伝子を探索した結果、T-box 型転写因子をコードする遺伝子 *Xbra3* を同定した。*Xbra3* はアミノ酸レベルで *Xbra* と 73%の相同性を持っていた。*Xbra3* は、原腸胚の帯域領域（予定中胚葉）で発現し、神経胚や尾芽胚では、脊索領域に発現していた。*Xbra3* の生物学的機能を調べるために、*Xbra3* mRNA を胚にインジェクションした結果、低濃度では、尾のような構造を誘導し、高濃度では、体軸の湾曲を引き起こした。次に、*Xbra3* が中胚葉の遺伝子発現を誘導できるかを調べた結果、*Mix.1*、*Apod*、*Xnot* の発現を誘導できたが、*Eomes* の発現は誘導できなかった。*Xbra3* の遺伝子発現を制御しているシグナル分子を調べるために、ツメガエル胚に阻害型アクチビン受容体あるいは阻害型 FGF 受容体の mRNA をインジェクションし、*Xbra3* の発現を調べた結果、*Xbra3* の発現が消失した。つぎに、内在性 *Xbra3* の機能の必要性を調べるために、阻害型 *Xbra3* を作製し、胚にインジェクションした結果、胚の背側軸が伸展しなかった。阻害型 *Xbra3* をインジェクションした胚の中胚葉遺伝子の発現を、in situ hybridization 法で調べると、中胚葉だけに発現する *Xbra*、*Xnot* の発現は消失したが、中内胚葉領域にも発現するような *Apod*、*Mix.2* の発現は完全には消失しなかった。以上のよう結果から、早田氏は、*Xbra3* は原腸胚の中胚葉に発現し、中胚葉の形成に関わっている遺伝子であることを明らかにした。

2 番目に、シュベーマンオーガナイザーおよび内胚葉に発現する新規遺伝子 *Mig30* の機能解析を行った。内胚葉に発現する *Mixer* によって誘導される遺伝

子として単離された *Mig30* はインスリン様増殖因子結合タンパク質ファミリーに属するタンパク質をコードしていた。*Mig30* mRNA を卵母細胞に注入すると、培養液に *Mig30* タンパク質が検出されたので、*Mig30* は分泌タンパク質であることが示された。*Mig30* 転写産物は、原腸胚のシュベーマンオーガナイザー領域の前方中内胚葉に強く発現していた。また、原口より下の内胚葉細胞にも発現していた。尾芽胚では、咽頭、前脳と後脳の脳室側基底部、脊髄、耳胞、心臓そして肝臓という様々な器官に発現していた。*Mig30* の生物学的活性を調べるために、*Mig30* mRNA の *Xenopus* 胚への注入実験を行った。*Mig30* mRNA を腹側に異所的に発現させても、形態形成への影響は見られなかったのに対し、背側に過剰発現させると、頭部形成が阻害された。*Mig30* と他の頭部誘導因子との関係を調べるために、二次的頭部誘導アッセイを行った。*Mig30* はこれまでに知られている頭部誘導因子 (*Xwnt8*、*Cerberus*、*Frzb*、*Dkk-1*) の活性を不完全に抑えた。つぎに、集合伸長運動と *Mig30* の関係を調べた。アニマルキャップ外植体をアクチビンで処理すると、アニマルキャップは伸長する。この運動は原腸胚の背側中胚葉細胞に起こる集合伸長運動を模倣している。*Mig30* mRNA を注入したアニマルキャップをアクチビンで処理しても、この伸長はみられなかった。*Mig30* と細胞系譜マーカーとして  $\beta$ -gal mRNA を胚に共注入し、細胞の挙動を調べた。 $\beta$ -gal mRNA のみ注入した胚では、 $\beta$ -gal を発現する細胞は正中線に向かって集合し、胚の前後軸が伸長した。一方、*Mig30* を共注入すると、その細胞は、横軸にそって幅広く分布し、前後軸の伸長が妨げられた。以上の結果から、*Mig30* は前方内中胚葉および内胚葉に発現し、背側中胚葉に引き起こされる集合伸長運動を抑えることを明らかにした。

このように早田氏は初期中胚葉形成に関与する新規遺伝子 *Xbra3* の機能解析を行い、また、シュベーマンオーガナイザーと内胚葉に発現する新規遺伝子 *Mig30* が細胞運動を阻害することを明らかにした。審査員全員から高い評価を得た。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。