

論文審査の結果の要旨

氏名 成瀬 智恵

本論文は5章からなり、1章は序論、2章は、ジーントラップ法による遺伝子変異マウスの作製について、3章は、EphA2 受容体型チロシンキナーゼ欠損マウスの解析について述べられている。4章は結語、5章は参考文献である。

Eph 受容体型チロシンキナーゼファミリーは、チロシンキナーゼファミリーの中で最多の分子の属するファミリーである。Eph 受容体と ephrin リガンドは、神経、血管、体節、四肢など、発生過程においてマウス胚の様々な組織に発現し、機能することが知られている。そして、多くの場合、Eph 受容体を発現する細胞と、ephrin リガンド発現細胞は相互排他的に分布することが知られており、*in vitro* で細胞を混在させたときに相互に排斥するよう機能することも確かめられている。最近の研究では、相互排他的な機能だけでなく、Eph 受容体と ephrin リガンドが同一細胞に同時発現している場合や Eph 受容体のアイソフォームが存在する場合には互いの細胞が親和性を持つことが明らかになり、Eph 受容体と ephrin リガンドの役割は、発生過程を理解する上でますます重要性を増してきた。論文提出者は、ジーントラップ法により EphA サブファミリーの1つである EphA2 の変異マウスを得た。その結果、EphA2 が尾部における脊索細胞の位置決定に重要な役割を果たすことが明らかになった。

EphA2 ヘテロ変異マウスは野生型マウスと区別がつかないが、EphA2 ホモ変異マウスは尾部の屈曲、短小化が起こる表現型を示した。成獣の尾部の組織切片標本作製し観察したところ、ホモ変異体の90%において尾椎が異所的に形成されていることがわかった。尾部の異常の原因を調べるために、尾長及び尾部の形態の異常の起こる時期を調べた結果、胎生12.5日から13.5日の間に形態異常が現れることがわかった。

胎生12.5日前後での尾部形成における EphA2 と ephrinA リガンドサブファミリーの働きを調べるために、正常な尾形成における発現パターンを調べたところ、EphA2 は脊索の先端部に限局した発現を示した。一方、EphA2 のリガンドの1つである ephrinA1 が尾芽に発現していた。EphA2 発現細胞と ephrinA1 発現細胞は隣接していたが、ephrinA1 は脊索及び脊索となるべき細

胞には発現しておらず、両者の発現部位は重複してはいなかった。ところが、EphA2 変異マウスにおいては、*ephrinA1* の発現パターンに変化は見られなかったが、EphA2 を発現すべき細胞が *ephrinA1* 発現領域である尾芽にまで広がって分布していた。この結果は、尾形成においては EphA2 と *ephrinA1* の両者の排他的な相互作用が脊索予定細胞の分布を決定している可能性を示唆する。

そこで、脊索形成に異常がないかどうかを脊索細胞の自発的発現遺伝子である *Brachyry (T)* の発現を指標に調べた。その結果、野生型及びヘテロ接合体では尾の前後軸方向に一直線に伸びている脊索が、ホモ接合体では尾の先端部において二分していた。個体によっては二分した脊索が複雑に曲がり、交叉しているものもあった。さらに、体節から硬節を誘導する *Sonic hedgehog* と硬節のマーカである *Pax1* の発現を調べることにより、脊索の異常形成が脊椎の形成に及ぼす影響を調べた結果、*Sonic hedgehog* の発現部位は脊索の異常に従い彎曲しており、*Pax1* により異所的な硬節の形成も認められた。これらのことから、EphA2 変異マウスにおいては、脊索の異常形成が起こり、そのことが直接の原因となって将来脊椎となる硬節の異所的な形成が起こることがわかった。以上の結果から、EphA2 と *ephrinA1* は尾部の脊索先端において、相互排他的なシグナルを送ることによって、脊索となるべき細胞が尾芽に拡散しないように働いていると考えられる。

以上、本研究により、尾部脊索の正常な形成には、EphA2 と *ephrinA1* の働きによって脊索先端に脊索となるべき細胞が凝集していることが必要であることが初めてわかった。マウスにおける Eph ファミリー及び *ephrin* ファミリーの欠損マウスについてはいくつかの報告があり、その大部分は神経系に欠陥を持つが、脊索形成に Eph ファミリーが関与することを示したのはこの報告が初めてである。また、尾部脊索形成の際にも、これまで知られていたように、Eph と *ephrin* が相互排他的に機能していることが明らかになった。この様に、本研究は発生学分野に大きく貢献するものである。

なお、本論文においてマウス作製は浅野雅秀、岩倉洋一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。