

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 巖 軍麗

本論文は、胎盤の形成過程におけるレチノイン酸の役割を解明することを目的に、胎盤の幹細胞株である TS 細胞を用いて解析した結果を中心に論じたもので、三章より構成されており、要約すれば以下ようになる。

第一章では、まず、核内受容体スーパーファミリーに含まれるいくつかの分子について、その遺伝子の TS 細胞における発現が、RT-PCR により解析されている。その結果、胚の子宮への着床に重要な役割を担うことが知られているエストロゲンやプロジェステロンに対する核内受容体は発現されないことがわかった。その一方で、GCNF、TR2、COUP-TFII、Rev-Erb、および ROR といった、何らかのかたちでレチノイン酸シグナルに関与することが報告されている受容体が、TS 細胞の増殖あるいは分化条件において、様々な発現パターンを示すことが明らかになった。

第一章の結果から胎盤形成にレチノイン酸が作用する可能性が示唆されたため、第二章では、それを検証する目的で、TS 細胞の増殖および分化に対するレチノイン酸添加の影響と、妊娠マウスへのレチノイン酸投与による、胎盤の原基である外胎盤錐 (ectoplacental cone) の発生への影響が解析された。FGF4 と胎児繊維芽細胞培養上清 (EMFI-CM) の除去によって TS 細胞は各種栄養膜細胞サブタイプへ分化するが、レチノイン酸は、海綿状栄養膜細胞の分化を抑制すると同時に、栄養膜巨細胞への分化を促進した。さらに、妊娠中のレチノイン酸投与でも、栄養膜巨細胞の過形成と海綿状栄養膜細胞の減少が見られた。これらから、レチノイン酸は細胞外シグナル因子として働き、栄養膜細胞の分化方向の選択に関与することで、栄養膜巨細胞の分化を促す母体組織由来生体内位置情報として機能していることが考えられる。

第三章では、まず、TS 細胞の培養系では、レチノイン酸が FGF4 と EMFI-CM の分化抑制/増殖促進作用に拮抗する作用を及ぼすことが示されている。このことは、生体内での胎盤形成時には、内在性レチノイン酸の局在が厳しく制御されていることが必要であることを示す。そこで、レチノイン酸の不活性化酵素である CYP26A1 の発現様式を調べると、興味深いことに、CYP26A1 は原始内胚葉層に加え、栄養膜幹細胞集団が存在すると考えられている胚体外外胚葉で特異的に発現していることがわかった。また、CYP26A1 は未分化条件下の TS 細胞でのみ発現しており、FGF4 と EMFI-CM の除去後 12 時間で発現は失われ

た。さらに、CYP26A1 ノックアウトマウスの解析から、本酵素の欠損は巨細胞過形成を伴う胎盤形成初期の異常につながるということが明らかとなった。これらの結果は、CYP26A1 が栄養膜幹細胞の早発的な分化を防ぐという新しい役割を示すものである。

本論文で論じられた解析結果と、生体内における栄養膜巨細胞とレチノイン酸産生部位の位置関係、さらにレチノイン酸受容体の発現部位を併せ考えると、レチノイン酸は栄養膜巨細胞が胎盤辺縁部で形成されるための位置情報として働く母体組織由来因子である、という可能性が考えられる。ビタミン A 欠損ラットの胎児死と胎盤異常についての報告があるが、レチノイン酸産生の欠如が巨細胞形成に影響を与えうることから、大変興味深い。

レチノイン酸の不活性化酵素として、CYP26A1 は後脳のパターン形成、脊椎骨の identity の獲得、及び体後部の発生に重要である。さらに、組織・細胞によって様々な細胞分化制御における役割が報告されている。栄養膜細胞における CYP26A1 の役割はここで初めて示されるものである。CYP26A1 欠損マウスは栄養膜幹細胞の維持に働く *Err β* や *Fgf2r* の変異体に似た異常を示す。このことから、栄養膜幹細胞の維持には、適切な増殖因子による分化抑制／増殖促進機構と、レチノイン酸による分化促進作用からの防御機構が、同時に必要であることがいえるだろう。

本研究は、レチノイン酸が胎盤細胞の分化に影響を与え、その一方でレチノイン酸代謝酵素 CYP26A1 が栄養膜幹細胞の維持に働いていることを明らかにし、レチノイン酸の作用と代謝機構が胎盤形成に重要であることを示した最初の報告である。本研究による発見は、胎盤発生におけるレチノイン酸シグナルの役割とその重要性を強く示唆する。これは、哺乳動物胚発生に必須である胎盤の形成制御機構機構を解明していく上で重要な知見で、獣医学領域に貢献しているところが少なくない。よって、審査員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。