

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 小林 大介

本研究は、中枢神経系の発生過程における、転写制御因子による神経原基の領域特異化の分子機構を解明することを目的としている。シグナル分子 FGF8 は発生期神経原基後方領域では転写制御因子 En2 を、前方領域では転写制御因子 Bf1 を誘導することが知られている。また、シグナル分子 Shh は後方領域で転写制御因子 Nkx6.1 を、前方領域で転写制御因子 Nkx2.1 を誘導することが知られている。こうした反応性の違いの基盤を明らかにするため、ニワトリ胚でエレクトロポレーション法を用いた異所発現実験を行い以下の結果を得ている。

1. 発生期神経原基において、転写制御因子 Irx3 の発現領域は FGF8 が En2 を誘導する領域と非常に良い相関関係にあることが示された。一方、転写制御因子 Six3 は FGF8 が Bf1 を誘導する領域で発現していることが示された。
2. ニワトリ胚でのエレクトロポレーション法による異所発現を用いて、Irx3 が FGF8 に対する後方型の応答性を規定する可能性を検討した。Irx3 を異所発現させたところ En2 が前方で異所性に発現することが明らかとなった。しかも Irx3 遺伝子は広範囲に導入されているにも関わらず、En2 の誘導は内在性の FGF8 発現部位の近傍に限られていた。つぎに、恒常活性化型 FGF 受容体と Irx3 を共発現させると、内在性の FGF8 発現部位から離れた領域でも En2 の発現が誘導された。さらに、ドミナントネガティブ型 FGF 受容体によ

って FGF シグナルを遮断した場合には、Irx3 による En2 の異所発現は観察されなかった。これらの結果から、Irx3 は後方領域における FGF8 依存的な En2 の発現を制御していることが強く示唆された。

3. Irx3 の異所発現によって異所性の中脳組織が形成されたことが、分子マーカーならびに組織像から示された。従って、Irx3 は FGF8 に対する反応性を規定し、中脳組織の形成を担うと考えられた。
4. ニワトリ胚でのエレクトロポレーション法による異所発現を用いて、Six3 が FGF8 に対する前方領域での応答性を規定する可能性を検討した。Six3 の強制発現によって、内在性の FGF8 が発現している領域でのみ Bf1 の異所発現が観察された。さらに、恒常活性化型 FGF 受容体と Six3 を共発現させると内在性の FGF8 発現部位から離れた領域でも Bf1 が誘導されることが観察された。これらの結果は、Six3 が FGF8 に対する前方型の応答性を与えていることを示唆している。
5. Six3 および Irx3 の発現領域は、Shh が前方で Nkx2.1 を誘導する領域、後方で Nkx6.1 を誘導する領域とも良く相関していることが観察された。
6. Six3 と Irx3 の強制発現により、それぞれ Nkx2.1 と Nkx6.1 が異所性に発現した。しかも、この異所発現は Shh の作用する神経板腹側に限られて観察された。これらの結果から、Six3 と Irx3 は標的遺伝子の発現を直接制御しているわけではなく、Shh に対する細胞の応答性を制御していると考えられた。

以上、本論文は、神経板で領域特異的に発現している転写制御因子 Six3 と Irx3 が、FGF8 や Shh といった分泌性シグナル分子に対する領域特異的な応答性を規定し、その結果として領域ごとに異なる組織形成と細胞分化が生じることを明らかにした。本研究は、脳の形態形成の分子基盤の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものであると考えられる。