

論文審査の結果の要旨

氏名 稲木(菊池)美紀子

本論文では、ショウジョウバエの肢の中央領域における Hedgehog の機能とその抑制因子 Pxb の同定について述べられている。

hedgehog (hh) 遺伝子群は脊椎動物や無脊椎動物の器官形成過程において最も重要な遺伝子群の一つである。ショウジョウバエの翅原基や肢原基において、Hh は後部区画で発現し分泌され、前部区画で *decapentaplegic (dpp)* や *wingless (wg)* などの遺伝子の発現制御を行う。分泌蛋白質である Dpp や Wg はモルフォゲンとして働き、前部及び後部区画全体の細胞運命決定を行い、Hh の long range の機能を担っている。近年、翅において Hh は long range の機能の他に、Dpp とは独立に、直接、翅の中央領域（前後境界領域）を決める short range の機能を持つことが報告されている。この Hh の short range の機能については翅以外の系では解析されていない。そこで、論文提出者は肢における Hh の short range の機能に焦点を絞って研究を行った。

論文提出者は、*hh* の温度感受性変異体 *hh^{ok}* を許容温度で飼育すると翅において中央領域のみがなくなるという Hh の short range の機能が欠失したような表現型を示すことを見出した。このハエでは、肢においても先端節の腹側の hair や背側の先端の bristle といった中央領域の構造物が欠失していることがわかった。また、高レベルの Hh シグナルのみを伝達すると言われていた、セリン/スレオニンキナーゼをコードする *fused (fu)* 遺伝子の変異体 *fu'* のヘミ接合体においても同様に中央領域の構造物が欠失する表現型がみられた。これらの結果から、肢の中央領域の正常なパターン形成には高レベルの Hh シグナルが必須であることが示された。

論文提出者は、この Hh の機能に関わる新規遺伝子を得るため、エンハンサートラップシステムのスクリーニングを行い、肢原基の前後境界領域で特異的に発現制御される遺伝子を探索し、新規の II 型膜蛋白質をコードする遺伝子 *pxb* を単離した。*pxb* は肢原基の前部区画特異的に発現し、3 齢幼虫中期から後期では前後境界領域で抑えられていた。*pxb* の転写の抑制が、許容温度で飼育した *hh^{ok}* では見られないことから、*pxb* の転写は高レベルの Hh シグナルにより負に

制御されていることがわかった。

pxb の null 変異体では成虫肢に異常はみられなかったが、Gal4/UAS の系を用いて前後境界領域で *pxb* を異所発現させると、肢の腹側の hair や scutellum の bristle の数が減少し、許容温度で飼育した *hh^{9k}* と同様の表現型を示した。このことから、Pxb は高レベル Hh シグナルを抑制する機能を持つことが示された。また、Hh のリセプターである Ptc が発現していない後部区画に *pxb* を異所発現させても、前部区画の前後境界領域で hair の減少が見られたことから、Pxb が、Hh が Ptc と結合する前に Hh に作用し抑制因子として働くことが示唆された。

肢原基の前後境界領域においては、*wg* 及び *dpp* も Hh により発現が誘導される。そこで RNA interference の系を用いて、Wg 及び Dpp の発現を減少させたところ、Dpp の減少による背側の bristle の消失は見られなかったが、Wg の減少によって腹側の hair がほぼ完全に消失した。よって、肢の中央領域の腹側では高レベルの Wg シグナルが、hair の形成に関して正に働いていることがわかった。Dpp については翅と同様に肢の中央領域のパターン形成には関与していないと考えられた。また、モザイク解析により、Wg 及び Dpp シグナルは *pxb* の抑制には関与しないことが示された。

これらの結果から、肢の前後境界領域においては高レベルの Hh は *pxb* の抑制と *wg* の誘導という2つの機能を持つことが示された。Pxb は Hh シグナルの抑制因子として働くことから、肢の前後境界領域では *pxb* の抑制を介した正のフィードバック機構が働いており、それにより維持される高レベルの Wg シグナルが hair の形成に関して正に働いていることが示唆された。

以上のように、論文提出者は本論文において、Hh の肢の中央領域における新たな機能と、そのシグナル伝達の新たな制御機構についての重要な知見をまとめている。

なお、本論文は小嶋徹也、上田龍、及び西郷薫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。