

# 論文審査の結果の要旨

氏名 信賀 順

本論文は2章からなり、第1章は領域特異的に発現する新規遺伝子を体系的にかつ効率良く検索・単離する方策を検討し、単離した遺伝子の中から新規 bHLH 抑制型転写因子 XHR1 について機能解析を行った結果について述べている。第2章は XHR1 を用いて神経組織と表皮との境界形成に関して検討した結果について述べている。

脊椎動物において、神経胚期の前部神経外胚葉から脳の各領域がどのようにパターン形成されるかについての分子メカニズムは未だ充分には明らかにされていない。そこで、神経板内で領域特異的に発現する新規遺伝子を検索・単離し、脳の初期パターン形成をそれらの発現パターンとして記述すると共に、それらの中から発生制御遺伝子と目される遺伝子の機能解析を行うことで脳の初期パターン形成のメカニズムを明らかにし得ると考えられる。

アフリカツメガエル胚の前部神経外胚葉から単一方向性の cDNA ライブラリーを作製し、約 800 クローンについて全胚 *in situ* ハイブリダイゼーション法による発現パターンと部分塩基配列により新規遺伝子の検索を行った。これらのファージクローンは単離後 96 ヶプレートに保存し、後の操作をプレート単位で行えるよう効率性を実現した。その結果、既知遺伝子を含むいくつかの前部神経板特異的遺伝子を単離し得た。そのうち、bHLH-WRPW 型転写抑制因子をコードする新規遺伝子 *XHR1* (*Xenopus* HES-related gene 1)は、脳形成においてオーガナイジングセンターとして重要な中脳・後脳境界領域に限局した発現を示した。

各発生段階での XHR1 の発現を既知遺伝子の発現パターンと比較検討した結果、XHR1 の発現で示される予定中脳・後脳境界領域の領域化は原腸胚初期に既に開始していることが示唆された。さらに、XHR1 は *Xotx2* と *Xgbx-2* の発現領域が神経外胚葉で境界を形成する以前から特異的な発現を開始することより、これまでの知見と異なり予定中脳・後脳境界領域の位置決定は *Otx2* および *Gbx2* の発現に依存しないことが示唆された。機能解析として、各種ドミナント・ネガティブ型 XHR1 の RNA を初期胚に顕微注入した結果、中脳・後脳境界領域のマーカー遺伝子である *XPax-2* および *En-2* の発現を抑制し、野生型 XHR1 の注入により *En-2* の発現上昇が認められた。これらの結果より XHR1 は中脳・後脳境界領域のパターン形成に関与する因子であることが示唆された。

上記機能解析の過程で、ドミナント・ネガティブ型 XHR1 の異所発現により尾芽胚期での神経組織の過形成が認められた。その原因を種々の神経マーカーにより検討したところ、神経胚期において神経板の境界が不明瞭かつ表皮側に拡大することが過形成の原因と考えられた。このことより、神経と表皮の境界形成が XHR1 と相互作用し得るある種の転写抑制型 bHLH 因子によって規定されていることが示唆された。

本研究では、予定中脳・後脳境界領域に特異的に発現する新規遺伝子 XHR1 を見出し、その機能解析を行うことで中脳・後脳境界形成に関する新たな遺伝子カスケードの存在と、神経と表皮の境界形成における bHLH 型転写因子の関与が示唆された。

なお、本論文第 1 章は伊藤万里、塩川光一郎、平良珠美子、平良眞規との、第 2 章は平良眞規との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析と検証を行ったもので、論文提出者の寄与は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。