

本研究は発生過程のマウス個体およびマウス胚性幹 (embryonic stem: ES) 細胞における polypyrimidine tract binding protein (PTB) の役割を明らかにするために、*Ptb* 欠損 (knockout: KO) マウスおよび *Ptb*-null ES 細胞の作製とその解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. *Ptb* ヘテロ変異マウスどうしを交配して得られた新生仔の遺伝子型をサザンブロット解析したところ、*Ptb* ホモ変異マウスは存在しなかった。発生過程において、胎生 3.5 日目ではホモ変異体は存在したが、胎生 6.5 日目以降では確認されなかった。この結果から *Ptb* KO マウスは着床前後の時期に胎生致死であり、PTB がマウス初期発生に必須であることが明らかとなった。
2. *Ptb* KO マウスの胚盤胞は、形態的にコントロールと見分けがつかず、*Oct-3/4*、*Nanog* および *Rex-1* の発現も維持していた。しかしこの内部細胞塊から新たに ES 細胞を樹立することはできなかった。
3. Cre/loxP システムを用いて *Ptb* 遺伝子の両アレルを欠損させ、*Ptb*-null ES 様細胞を得た。*Ptb*-null 細胞において、*Oct-3/4* の発現量はコントロールと同程度に維持されていたが、*Nanog* および *Rex-1* の発現量は低下していた。
4. *Ptb*-null 細胞は増殖速度が低下しており、スキッドマウスに移植してもテラトーマを形成しなかった。*Ptb*-null 細胞は細胞周期 S 期の割合が減少しており、BrdU 取り込み速度が低下していた。この時、*Ptb*-null 細胞においてアポトーシスの亢進は確認されなかった。*Ptb*-null 細胞に *Ptb* 遺伝子を強制発現させると、増殖能が回復した。以上の結果から、*Ptb*-null 細胞は生存するが、増殖能が *in vivo*、*in vitro* いずれの条件下でも低下しており、PTB は ES 細胞の高い増殖能の維持に必要であることが明らかとなった。
5. 胚様体を形成させて分化誘導したところ、*Ptb*-null 細胞では原始外胚葉マーカー *Fgf5*、原始内胚葉マーカー *Gata4*、*Gata6* および *H19* mRNA の発現量がいずれもコントロールより低下していた。*Ptb*-null 細胞は部分的に多分化能を失っており、PTB が ES 細胞の多分化能の維持に必要であると考えられた。

以上、本研究により PTB はマウス初期発生過程で必須であるのみならず、ES 細胞の多分化能と高い増殖能を維持するために必要であることが明らかとなった。本研究は、初期胚に含まれる幹細胞が活発に増殖して様々な成熟細胞に分化するために必要な mRNA 転写後修飾の役割の解明に重要な貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。