

論文審査の結果の要旨

氏名 須澤 佳子

本論文は、細胞膜に存在する糖輸送体、グルコーストランスポーター1 (GLUT1) が、初期発生における収斂伸長運動において細胞極性を制御することにより正常なボディパターン形成に関与することを示した論文である。

細胞膜に存在するグルコーストランスポーター (GLUT) は細胞内外の濃度差を利用してグルコース等の単糖類の受動輸送を行う糖輸送体である。GLUT1は14種類が報告されているGLUTファミリーの代表的な輸送体であり、多くの動物種でほとんどの細胞に存在し、主にグルコースを輸送する。GLUT1のアミノ酸配列は種を超えて高度に保存されており、ヒトにおいては先天性の遺伝子欠損症が多数報告されている。その多くが神経系の発達障害や代謝系の異常を招くことから、GLUT1は神経系の発達や生存の維持に必須の因子であると考えられている。GLUT1は古くから研究が盛んなタンパクであったが、初期発生における発現パターンや機能はほとんど知られていなかった。

先行研究において、背側中胚葉の誘導を担うシグナル経路であるActivin/Nodalシグナルの下流で発現する因子としてツメガエルにおけるGLUT1 (*xGLUT1*) がスクリーニングされたため、GLUT1が初期発生に関与する可能性が生じた。そこで論文提出者は本論文の前半で、GLUT1のアクチビン応答を調べ、アニマルキャップアッセイにより*xGLUT1*の発現がアクチビンの濃度依存的に上昇することを確認している。次に、RT-PCRにより*xGLUT1* mRNAが後期胞胚期から発現を開始することを明らかにしている。また全胚*in situ* hybridizationにより*xGLUT1*は原腸陥入期においては原口上唇部に、原腸陥入が進むにつれて中軸中胚葉や前方神経板の一部に、神経板形成期には神経板の中央部、脊索、体節に、神経管閉鎖後は神経管の下部と脊索、体節、セメント腺、眼に局在することを示し、GLUT1の発現が中胚葉形成期からすでに始まっていることを明らかにしている。本論文においてはモルフォリノアンチセンスオリゴヌクレオチド (MO) を用いた*xGLUT1*の機能阻害実験により、*xGLUT1*の阻害によって著しい頭部欠損と体軸の欠損が引き起こされるが、それらの欠損の原因が原腸陥入の異常によることを示している。さらに、MOを予定神経領域に特異的に注入すると、神経管の閉鎖が阻害され頭部構造が欠失した胚が得られることから、*xGLUT1*の阻害により原腸陥入運動のうちの収斂伸長運動が影響を受けたと推論している。また、*xGLUT1*が阻害された胚では中胚葉誘導と原口上唇部の持つ組織誘導能には影響がないことを示し、MOによる原腸陥入異常の原因が中胚葉誘導の異常によるものではないことの裏付けを行っている。

本論文の後半では、*xGLUT1*を阻害することにより、収斂伸長運動が阻害され、中胚葉領域の細胞の形状と極性に異常が起きることを示している。はじめに収斂伸長運動に対する*xGLUT1*阻害の影響を調べるために、原腸胚から切り出した2枚の原

口上唇部を張り合わせた外植体を作成し、xGLUT1 MOを注入した外植体では収斂伸長運動によって起こる外植体の伸長が阻害されることを示している。次に、この原口上唇部内の細胞の挙動を詳細に観察するため、接着培養した原口上唇部内の細胞の運動を経時的に観察している。その結果、無処理の原口上唇部では収斂伸長運動に伴い、細胞が双極化し時間の経過とともに一方向の極性を持った細胞の移動が観察されるのに対し、xGLUT1 MOを注入した外植体内の細胞は双極化せず、回転するような挙動を示すことを明らかにしている。

これまでGLUT1は、糖輸送によるエネルギー供給により細胞の生存を維持し、神経管形成後の個体における神経細胞の生存と発達に貢献するという機能のみが知られていたが、本研究によって、GLUT1が、中胚葉誘導の起こる時期から発現を開始していること、原腸陥入の原動力となる収斂伸長運動において、細胞の極性を制御していることが明らかになった。本研究は、これまで糖輸送能や代謝の方面からのみ研究されていたGLUT1が、正常な原腸陥入、正常な神経管の形成を通じてボディパターン形成にも必須の因子であるということを初めて示した研究となっている。

なお、本論文は、雪田聡氏・早田匡芳氏・後藤利保氏・團野宏樹氏・道上達男氏・Ken. W. Y. Cho氏・浅島誠氏らとの共同研究であるが、分析及び検証は論文提出者が主体となって行ったもので、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。