

論文審査の結果の要旨

氏名 橋口晶子

本論文はアフリカツメガエル *XTSC-22* の機能解析について述べた論文である。

論文の前半部分で、橋口氏は Transforming growth factor- β 1 stimulated clone 22 (*TSC-22*) のアフリカツメガエルにおけるホモログ (*XTSC-22*) を単離し、初期発生における役割の解析を行った。多細胞生物の初期発生では、細胞分裂が抑制されることが形態形成における細胞移動が起こるために必要である。一方、*TSC-22* は哺乳類ではがん抑制因子として知られており、マウスの発生ではごく初期から発現している。このことから、*TSC-22* は細胞分裂を制御することで初期発生における形態形成に寄与する可能性が考えられた。

モルフォリノアンチセンスオリゴ (MO) による *XTSC-22* の機能阻害は、原腸陥入の際の原口の閉鎖に顕著な遅延を引き起こした。この遅延は中胚葉誘導の阻害や中胚葉の収斂伸長運動の異常によるものではなかった。*XTSC-22* は原腸胚期に外胚葉において局所的な発現を示す。細胞系譜の追跡により、*XTSC-22* 機能阻害胚では外胚葉細胞の原口への運動が乱されていることが示された。このとき、外胚葉では細胞分裂が亢進していた。一方、*XTSC-22* をわずかに過剰発現した胚では細胞分裂が抑制されていた。*XTSC-22* 機能阻害による細胞分裂の亢進を、*p27Xic1* の過剰発現によって抑制したところ、*XTSC-22* 機能阻害によって引き起こされた原腸陥入の遅延は見られなくなった。この際、外胚葉細胞の原口へと向かう運動も正常に近い状態になっていた。以上の結果から、*XTSC-22* は原腸陥入の際に外胚葉に特異的に発現して当該領域の細胞分裂を制御することで原腸陥入運動を調節していると考えられた。

ツメガエル胚では、移動する細胞群に特異的に発現してその領域の細胞分裂を抑制することを通じて形態形成を調節する因子が存在する。例えば最初の大規模な形態形成運動である原腸陥入では、移動する中胚葉細胞群は細胞分裂を行わない。このとき、細胞分裂の抑制が阻害されると細胞の移動に影響が生じる。しかしながら、原腸陥入の進行に関して中胚葉と同様に深く関与する外胚葉においては、この領域特異的に細胞分裂を抑制する因子の存在は知られていなかった。本研究の結果は、分裂停止-形態形成という関係が外胚葉でも見られることを初めて明らかにした。

次に橋口氏は *XTSC-22* が細胞分裂を抑制する機構の解析を行った。哺乳類の *TSC-22*

は転写因子として機能することが分かっている。そこでこの点を検討したが、XTSC-22 は哺乳類 TSC-22 とは異なり、転写因子としては機能しない可能性が示唆された。XTSC-22 の欠失変異体を用いた解析を行った。その結果、TSC box と呼ばれる領域が核に局在することが XTSC-22 による細胞分裂の抑制に必要であることが明らかになった。さらに免疫共沈降を行った結果から、XTSC-22 は分裂抑制因子 p27Xic1 と相互作用することが示された。XTSC-22 が細胞分裂を抑制する際に核局在することおよび p27Xic1 と相互作用することから、XTSC-22 は p27Xic1 の核内での活動を助ける可能性が考えられた。

本研究で橋口氏は、XTSC-22 が原腸陥入の際に外胚葉特異的に発現して細胞分裂を抑制することで原腸陥入を調節していることを明らかにした。分裂停止-形態形成という関係が中胚葉だけではなく外胚葉にも見られることは、原腸陥入を完了させるためにさまざまな調節機構が存在することを示しており、複雑なシステムである多細胞生物の発生を理解する上で重要な知見である。

また、橋口氏は XTSC-22 による細胞分裂の抑制には TSC box が核局在することが必要であることを示すとともに p27Xic1 との関わりを示した。乳癌や大腸癌などの上皮性癌では p27 は核外にとどまっているという報告がある。これらの上皮性癌のうちいくつかは、TSC-22 の発現が減少していると報告されている癌である。本研究の結果は、これらの癌の増殖には TSC-22 による p27 の調節が関与するのではないかという可能性を示した初めての知見である。

なお、本論文の前半部分（XTSC-22 のツメガエル初期発生における役割の解析）は岡林浩嗣、浅島誠との共同研究である。また、後半部分（XTSC-22 が細胞分裂を抑制する機構の解析）は常陸圭介、乾雅史、岡林浩嗣、浅島誠との共同研究である。これらの研究は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。