

## 論文の内容の要旨

論文題目 「胚盤胞内幹細胞を制御する FGF4 ならびに BMP4 による  
シグナル伝達の分子機構解析」

指導教員 澁谷 正史教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 15 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 室橋 道子

幹細胞は *in vitro* において、さまざまな増殖因子やサイトカインを用いてその未分化性の維持や増殖および分化を人為的に制御できることが知られている。しかし、*in vivo* において幹細胞が増殖因子やサイトカインによってどのように制御されているのかについてはいまだ不明な点が多い。哺乳類における初期発生の胚盤胞期において、内部細胞塊 (inner cell mass) には ES (embryonic stem) 細胞が、栄養外胚葉 (trophectoderm) には TS (trophoblast stem) 細胞が含まれていることが知られている。そこで私は、内部細胞塊から分泌された FGF4 (fibroblast growth factor 4) によって栄養外胚葉で Bmp4 (bone morphogenic protein 4) が誘導・分泌され、内部細胞塊に伝達されるメカニズムについて解析を行った。TS 細胞において、Bmp4 の 5'プロモーター領域のルシフェラーゼアッセイを行ったところ、FGF4 反応性に活性が増強するエンハンサーが見出され、その部分は転写因子 Cdx2 の結合部位を含んでおり、ゲルシフトアッセイによりこの部位と Cdx2 との特異的な結合がみられた。また、FGF4 によって活性化した ERK が、Cdx2 な

らびに細胞培養液中に分泌される **Bmp4** の発現を誘導することがわかった。われわれはこれまでに、**TS** 細胞において **FGF4** が **ERK** を活性化する際に、**FGF** 受容体によってドッキング分子 **FRS2α** が活性化することが必須であることを示してきた。今回さらに、この *Frs2α* ノックアウト胚盤胞の培養を行ったところ、この変異胎児の胚盤胞において内部細胞塊が小さくなるという表現型がみられた。そして、この変異は **BMP4** を培養液に添加することで野生型と同程度まで改善された。これらの結果より、栄養外胚葉内 **TS** 細胞において **FGF4** は **FGF** 受容体-**FRS2α**-**ERK** 経路を活性化して **Cdx2** の発現を増強するとともに、**Cdx2** は **Bmp4** の転写活性化に重要な役割をはたし、さらに分泌された **Bmp4** は内部細胞塊の成長に必要なパラクライン因子であることが示唆された。