

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名： 室橋 道子

本研究は、哺乳類における初期発生の胚盤胞期において、内部細胞塊から分泌される FGF4 によって栄養外胚葉で Bmp4 が誘導・分泌され、内部細胞塊に伝達されるメカニズムを明らかにするため、栄養外胚葉をはじめとする胎盤系組織の幹細胞である TS 細胞ならびに FRS2 $\alpha$  のノックアウト胚盤胞を用いてシグナル伝達経路の解析を行ったものである。

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により 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。さらに、TS 細胞における FGF4 のシグナル伝達に重要な役割を果たしているドッキング分子 FRS2 $\alpha$  の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、この変異はリコンビナント 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-FRS2 $\alpha$ -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果たし、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。

以上、初期発生において栄養外胚葉のマスターレギュレーターといわれる Cdx2 によって活性制御をうけている遺伝子については不明な点が多かったが、本論文は初めて TS 細胞内で Cdx2 によって正に転写制御される遺伝子のひとつとして Bmp4 を同定したとともに、分泌された Bmp4 が内部細胞塊の発達を *in vivo* で支持している可能性を示した。

本研究は哺乳類の発生初期におけるシグナル伝達系ならびに幹細胞の性質およびその制御メカニズムと役割の解明に寄与することで再生医療研究への応用に重要な貢献となると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。