

審査の結果の要旨

氏名 浅香 聡

個体発生は受精にはじまり卵割、原腸形成や器官形成など様々な過程を経ることにより進行し、生体がつくられていく。これら胚形成に関する研究は遺伝子欠損マウスを用いた解析が盛んであり、そこに関わる遺伝子などが明らかになってきている。しかしながら、マウスでは遺伝子の網羅的な探索が難しいことや、また体内で発生が進行するため、細胞移動や組織形成の過程を時経的に観察することが困難であるなどの理由により、胚形態形成過程の詳細なメカニズムは不明な点が多く、この過程を解析できる実験系の開発が重要であった。「メダカ初期胚形成異常変異体 *hirame* の単離と解析」と題した本研究においては、まず脊椎動物でありながら遺伝学や発生学を行うことが容易であるメダカを用いて、胚形態形成不全となる変異体を単離することに成功した。さらには、それら変異体の中の一つ *hirame* 変異体の解析により、胚形態形成に関わる遺伝子を同定し、その新規メカニズムを明らかにしている。

1. 初期胚形成異常を示すメダカ変異体のスクリーニング

本論文では先ず、胚の形態を形成する過程に重要な遺伝子とその機能を明らかにするため、京都で行われた ERATO プロジェクト、メダカを用いた大規模変異体スクリーニングに参加し、プロジェクト全体で 300 種の変異系統を確立した。それらの変異体の中から初期胚において形態学的に異常を示す変異体を単離することに成功した。

2. *hirame* 変異体原因遺伝子の同定

初期胚形成に異常を示す変異体の一つ *hirame* 変異体は扁平胚という、他の種ではみられていない表現型を示す。この *hirame* 変異体の原因遺伝子の同定を遺伝子マッピングにより行い、*yes associated protein (YAP)* の遺伝子領域に変異が存在することを明らかにした。この変異はナンセンス変異であり、*hirame* 変異体に内在する YAP mRNA 量を測定したところ、野生型と比較し、その発現が著しく減少していた。

3. 発生期における YAP の機能についての解析

hirame 変異体は扁平胚の表現型以外にも心臓原基形成異常、腸管・血管形成不全といった組織形成異常を示す。YAP は現在までに細胞の生死に関与すること

が知られている分子であったことから、*hirame* 変異体の組織形成異常に対する細胞の生死の異常の関与を調べた。この結果、組織形成異常には、細胞の生死の異常は関与しないことが示されたことから、YAP は発生期において細胞の生死の制御以外の機能をもつことが示唆された。

発生期における YAP の機能を明らかにするため、組織形成の異常について詳細な解析を行ったところ、*hirame* 変異体においても、初期においては腸管、血管などの組織が正常に形成されていた。しかし、発生が進むとともにその形態を崩すため、最終的に組織が消失することが明らかになった。このことから、YAP は発生期において組織形態の維持に関わることが示唆された。

hirame 変異体における組織形態の崩壊時には細胞極性の消失が観察されたことから、細胞接着異常が組織崩壊に関与する可能性を検討した。細胞間接着、細胞-細胞外基質間の接着についてそれぞれ検討したところ、*hirame* 変異体においては細胞間接着に異常が認められなかったが、細胞外基質のラミニンの発現量が減少していることを見出した。さらに、細胞移植実験により、細胞極性の維持は YAP の細胞非自律的な機能によるものであることが明らかにされた。以上のことから、YAP はラミニンの発現を介して細胞の極性を制御し、胚形態維持に関与することが強く示唆された。

本論文では、胚形態形成のメカニズムを解明する目的でメダカを用いた大規模変異体スクリーニングを行い、多数の変異体の単離に成功した。また、それらの変異体の一つである *hirame* 変異体の解析を行い、その原因遺伝子 *yes associated protein* (YAP) の同定とその新規機能を明らかにしている。YAP は現在までに細胞の生死の制御に関与することが培養細胞の実験系において報告されてきた分子であるが、今回、発生期において細胞極性を制御することにより、組織形態の維持に関与することが示唆された。YAP に関しては遺伝子欠損マウスも存在するが、発生の初期に胚性致死となること、また母体内で発生が進むため、致死に至るまでの過程が観察できないため、個体における機能はほとんど明らかにされていない分子であった。メダカ変異体 *hirame* の解析においては、メダカ胚が体外で発生が進行するため胚観察や操作が容易であるという点を活かし、様々な手法を用いて YAP の機能解析を行っている。以上のように、この研究は独創性が高く、また高度な技能も必要とされる研究であり、博士（薬学）の学位論文として十分な価値があるものと判断される。