

論文審査の結果の要旨

氏名 西村佑介

繊毛細胞は生体内において重要な働きを担っているが、その分化メカニズムには不明な点が多い。その理由の一つは、既存の繊毛細胞への分化誘導系が分化メカニズムの解析に不適切な要素を持つことにある。既存の方法では生体から気管上皮細胞を採取し、それらを気相にさらすことで繊毛細胞へ分化させる。しかし、この方法では生体から採取した時点で既に分化が進んでいるため、繊毛細胞の初期分化を解析できないということや、気相にさらすという発生過程では存在し得ない特殊な環境でないと分化しないという短所があった。これらのことから、既存の方法に代わる新しい繊毛細胞への分化誘導系が必要とされていた。

第一章において論文提出者はマウス胚性幹細胞（ES 細胞）を用いた繊毛細胞への分化誘導系の確立について述べている。ES 細胞は分化多能性を持つ細胞であり、細胞や組織の初期分化を解析する有力なツールとして期待されている。論文提出者は ES 細胞から胚様体と呼ばれる細胞塊を形成し、それらを無血清培地で培養することで繊毛細胞を分化誘導することに成功した。分化誘導された繊毛細胞は二種類存在し、一方は脳室系の繊毛細胞、もう一方は呼吸器系の繊毛細胞である可能性を示した。また、論文提出者は成長因子の一種である BMP が非繊毛細胞への分化を促進することで繊毛細胞への分化を著しく抑制し、その抑制効果が胚様体接着後の 2 日間に限定されることを明らかにした。このように、論文提出者は無血清培地を利用することで、気相にさらすことなくマウス ES 細胞から繊毛細胞を分化誘導することに初めて成功し、繊毛細胞の初期分化の解析に有用な分化誘導系を確立した。

第二章において論文提出者は血清培地（FBS 培地）が繊毛細胞の分化を抑制し、その抑制効果が BMP シグナルを介していることを明らかにした。この FBS の抑制効果は BMP と同様、胚様体接着直後の 2 日間に限定されていたことから、BMP が FBS に含まれる繊毛細胞の分化抑制因子である可能性が考えられた。そこで、論文提出者は FBS 添加時における BMP シグナルの細胞内シグナル伝達分子である Smad1 のリン酸化状態を調べ、FBS が BMP シグナルを活性化できることを示した。さらに、BMP シグナルを抑制する抑制型 Smad を発現させることにより、FBS 培地においても繊毛細胞が分化することを明らかにした。このように論文提出者は BMP を含まないことが無血清培地で繊毛細胞が分化した要因の一つであることを示した。

第三章では、第一章で確立した分化誘導系を利用した *Foxj1*、*Foxa2*、*Centrin4* の三つの遺伝子の繊毛細胞の初期分化における機能解析について述べている。*Foxj1* は繊毛形成に必須の転写因子である。強制発現の結果より、*Foxj1* が様々な繊毛細胞マーカー遺伝子の発現を制御し、*Foxj1* の発現のみで繊毛細胞へ分化させる能力を持ち得ることを示した。*Foxa2*

は呼吸器系の形成に必須の転写因子であるが、繊毛細胞の分化との関わりには不明な点が多い。*Foxa2*を強制発現させると、呼吸器系の分化と共に繊毛細胞の分化も促進されていた。このように論文提出者は *Foxa2* が呼吸器系への分化を促進した結果、繊毛細胞の分化を促進した可能性を示した。*Centrin4* は繊毛細胞に特異的に発現する遺伝子であるがその機能は知られていない。*Centrin4* を強制発現、ノックダウンさせたが、繊毛細胞の分化に影響を与えなかった。この結果から *Centrin4* は繊毛細胞の分化に必須ではないと結論付けた。このように論文提出者は、いくつかの遺伝子の繊毛細胞の初期分化における機能を調べ、新しい知見を得たと共に、本論文で示した分化誘導系が繊毛細胞の初期分化における遺伝子の機能解析に有用であることを示した。

以上まとめると、論文提出者は本論文の第一章においてマウス ES 細胞を用いた新しい繊毛細胞への分化誘導系を示し、既存の方法ではできなかった繊毛細胞の初期分化の解析を可能にした。さらに、第二章で BMP シグナルが活性化しないことが繊毛細胞の分化に重要であることを示し、第三章において確立した分化誘導系が遺伝子の機能解析にも有用であることを示した。このように本論文は、繊毛細胞の分化メカニズムの研究を飛躍的に進めることが期待される新しい分化誘導方法を提供し、実際にこの分化誘導系を用いることで繊毛細胞の分化メカニズムの一部を明らかにしており、学問的価値の高い研究であると言える。

なお、本論文第一章と第二章の一部は浜崎辰夫博士・駒崎伸二准教授・上村慎治准教授・大河内仁志博士・浅島誠教授との共同研究であるが、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。