

論文審査の結果の要旨

氏名 宮岡 佑一郎

本論文は4章からなる。第1章は、イントロダクションであり、本論文で解析を行った Cysteine-rich fibroblast growth factor receptor (Cfr)、Delta-like protein (Dlk)、Fibroblast growth factor (FGF)、及び Fibroblast growth factor receptor (FGFR)の、これまでに明らかとなっている分子的特徴と機能が述べられている。また、本研究で Dlk の機能解明を目指して Dlk 結合分子を探索し Cfr を同定したこと、また Cfr が生理的機能の不明な FGF 受容体の一種であったため FGF シグナルに着目して Cfr と Dlk の機能解明を目指したことについて言及し、本研究の目的を示している。

第2章は本研究で用いた実験材料及び方法について述べられている。

第3章は本研究から得られた結果が述べられている。第1節では発現クローニング法による Dlk 結合分子の探索の過程と、その結果としての Cfr の同定について述べられている。Dlk と Cfr の特異的な結合を免疫沈降実験により確認し、さらに両者が共にゴルジ体に強く局在することを示して Dlk と Cfr の機能的関連を示唆している。これまでに知られていなかった Dlk の新たな結合分子を同定できたことに大きな意義がある。

第2節では Cfr 遺伝子の機能欠損マウスの作製の過程とその表現型について述べられている。作製したマウスが生育遅延、尾の形成異常および口蓋裂などの発生異常を生じ、約90%が生後2日以内に死亡することが示されている。Cfr の遺伝子機能欠損マウスはこれまでに報告がなく、Cfr の生理的機能を初めて明らかにした点が重要な成果である。また、このマウスの表現型がこれまでに報告のある Fgf18 遺伝子の機能欠損マウスおよび Dlk の過剰発現マウスの表現型と類似していることにも言及し、これらの分子の間の機能的関連を推測している。

第3節では、Cfr 遺伝子の機能欠損マウスの表現型から推測された Cfr、Dlk および FGF18 の分子間の機能的関連を実際に検討した結果について述べられている。まず Cfr と Fgf18 の遺伝学的相互作用を Cfr ヘテロマウスと Fgf18 ヘテロマウスをかけ合わせ、その仔を観察することで検討している。その結果 Cfr と Fgf18 のダブルヘテロマウスでのみ Cfr 遺伝子機能欠損マウスや Fgf18 遺伝子機能欠損マウスなどで認められるような、尾の形成異常を示すことを明らかにしている。したがって、Cfr と Fgf18 が遺伝学的相互作用を持ち、協調的に機能するというを示している。そこで Cfr と FGF18 の物理的な結合を検討し、両者が結合することも明らかにしている。Cfr と FGF18 の相互作用はこれまでに報告がなく、新しい知見である。さらに、Dlk がこの Cfr と FGF18 の結合を阻害することも示している。これらの結果から、Dlk が Cfr と FGF18 の結合を阻害し、両者の協調的機能を抑制していると推測される。この知見により、これまでほとんど明らかにならなかった Dlk の分子機能の少なくとも一部を明らかにしている。また Cfr と Fgf18 の両遺伝子の機能を欠損させたマウスを作製することにより、Cfr と Fgf18 の遺伝学的相互作用をさらに検討している。

その結果、両方の遺伝子機能を欠損させたマウスでは、*Cfr* と *Fgf18* のそれぞれの遺伝子機能を欠損させたマウスよりも強い表現型が認められた。したがって *Cfr* と *FGF18* の対応は 1 対 1 ではなく、他にも *Cfr* の機能に関与するシグナル経路が存在することが示されている。

第 4 章では得られた結果に基づいた考察を行っている。*Cfr* と *Fgf18* との遺伝学的相互作用が認められたことと両者が物理的に結合することから、*Cfr* と *FGF18* が協調的な機能を持つと考えられる。しかし *Dlk* 存在下では *Cfr* と *FGF18* の結合が *Dlk* によって阻害され、両者の協調的な機能を *Dlk* が抑制するというモデルを提唱している。このモデルによると *Cfr* と *Dlk* が適切な時期と部位に発現することにより、*FGF18* シグナルの強弱が調節され、正常な発生が進行していくと考えられる。これは今までにない全く新しい *FGF* シグナルの制御機構であり、大変意義深い。また、これまで不明な点が多かった *Cfr* と *Dlk* の機能として、*FGF* シグナルの制御という新たな役割を発見したという点も大きな成果である。

なお、本論文第 3 章は、田中 稔・高田 慎治・宮島 篤との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験、解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。