

論文審査の結果の要旨

氏名 高田 仁実

本論文は一部構成で要旨、序論、方法、結果、考察、文献、図表からなっており、アフリカツメガエル胚初期神経発生における RNA 結合蛋白質 Mex3b の転写後調節の役割について解析した結果を述べている。

動物の発生において、細胞運命決定やパターン形成を適切に制御するためには、遺伝子発現量の厳密な調節機構を含む制御システムが必要と考えられる。RNA 結合蛋白質による mRNA の転写後調節は、遺伝子発現量を素早くかつ厳密に制御することが可能であるため、初期発生において重要な役割を果たしていると考えられる。RNA 結合蛋白質はこれまで多数知られているが、脊椎動物の初期発生に関わることが示されたものは数少ない。本研究はアフリカツメガエル胚前部神経外胚葉に発現する遺伝子のスクリーニングから RNA 結合蛋白質 Mex3b を同定し、その初期発生における役割を解析したものである。解析の結果、Mex3b は FGF シグナル伝達系構成因子の mRNA の分解制御を行うことで前後軸形成に関与すること、さらに Mex3 は自身の mRNA を分解制御して蛋白質量を制御するという自己抑制作用があることを明らかにした。これは RNA 結合蛋白質による転写後制御機構が初期神経発生に果たす役割を初めて示したものであり、高く評価できる。詳細は以下の通りである。

Mex3b 蛋白質は構造予測より N 末側に RNA 結合ドメインとして知られる KH ドメインと、C 末側に E3 ユビキチンリガーゼとして働くことが示唆される RING ドメインを持つ。注目すべきことは、*mex3B* mRNA の 3' 非翻訳領域 (UTR) には約 800 塩基にわたって脊椎動物間で高度に保存された領域 (3' long conserved untranslated region; 3'LCU と命名) の存在である。Mex3b は原腸胚期にはオーガナイザーの領域と外胚葉全体に発現し、神経胚期においては神経板に発現が認められることから、初期神経発生に関与することが予想された。これらが本研究の発端となっている。本論文では、まず 3'LCU の解析が示されている。*mex3b* mRNA は 3'LCU を介して mRNA の分解制御、翻訳促進、自身の蛋白質による mRNA の分解制御という少なくとも 3 つの転写後制御を受けることが明らかとなった。特に、自己抑制の機能は自分自身による蛋白質量の監視メカニズムとして重要な役割を果たしていることが示唆され、また実際、実験的に確かめられた。このような自己抑制機構を含む統合的な mRNA 制御機構はこれまでに無い全く新しい知見である。

次に **Mex3b** 蛋白質の初期発生における役割を解析した結果が示されている。**Mex3b** の過剰発現実験では、神経板後方に発現する *cdx4*, *hoxd1* の発現が減少し、逆に、アンチセンスモルフォリーノオリゴを用いた機能阻害においては前方に発現する *otx2*, *rx2a* の発現が減少することが示された。このとき神経板全体に発現する *sox2* の発現には影響を与えなかったことから、**Mex3b** は神経誘導には影響を与えず、神経板の前後軸形成に影響を与えることが示唆された。神経板の前後軸形成においては **FGF** シグナルが重要な役割を果たすことが知られている。そこで **Mex3b** が **FGF** シグナルの制御を介して前後軸形成を制御することを予想し、**FGF** シグナルに応答するルシフェラーゼコンストラクトを用いた解析を行った。その結果、**Mex3b** の発現により **FGF** シグナルは阻害され、逆に **Mex3b** の機能阻害時には **FGF** シグナルの増強が認められた。このことから、**Mex3b** は **FGF** シグナルを負に制御することが示唆された。これは転写後調節がシグナル伝達の強度の決定に関わることを初めて示したものである。

次に **Mex3b** が制御する標的 mRNA の探索が行われた。マイクロアレイスクリーニングによって得られた多数の標的遺伝子候補の中で、**FGF** シグナル伝達系の構成因子に注目して、*fgf20*, *syndecan 2*, *syntenin*, *ets1* を見出した。各遺伝子の mRNA の 3'UTR について解析を行った結果、**Mex3b** は *syndecan 2* と *ets1* の mRNA の分解に関与することが示唆された。これにより **Mex3b** の活性と胚発生での役割とが結びついたことになる。

以上の結果より、**Mex3b** は 3'LCU を介した転写後制御を受けることにより蛋白質量が制御され、さらにそのようにして決定された **Mex3b** 蛋白質量にしたがって *syndecan 2* や *ets1* といった標的 mRNA の量が制御され、結果として前後軸形成に必要な **FGF** シグナル伝達量を制御するという新しいモデルが提案された。

本研究は **FGF** シグナル伝達量が RNA 結合蛋白質による転写後制御によって制御されていることを初めて示したものである。これまで RNA 結合蛋白質で機能が明らかになっているものは非常に数が少なかったが、本研究はその一端を明らかにしたものであり、また RNA 結合蛋白質が自己制御機構をもちそれがシグナル伝達制御に関わるという新たな知見を示した点で高く評価できる。

なお、印刷公表した論文中の **Mex3b** の解析の一部は共著者の川名貴洋氏や菊野玲子博士らによるものであるが、本論文に記載されている解析は全て論文提出者が主体となって分析および検証を行ったものであり、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。