

論文審査の結果の要旨

氏名 岡江 寛明

本論文は9章からなる。第1章は序論であり、哺乳類の初期発生研究についての概論および、遺伝子トラップ法について述べられている。第2章は実験手技および材料について述べられている。第3章は研究結果であり、遺伝子トラップ法とES細胞の分化誘導系を併用した膜局在遺伝子の新たなスクリーニング法、およびこの方法を用いた遺伝子ノックアウト (KO) マウスの作製および得られたマウスの解析結果が述べられており、特に Gβ1 KO マウスについて詳細な解析を行っている。第4章は考察であり、第5、6章は図表を示している。第7章は参考文献、第8章は謝辞である。第9章は参考資料であり、遺伝子トラップベクターの挿入位置を示している。

論文提出者は、膜蛋白質に特徴的に見られるシグナルシーケンスを持つ遺伝子を特異的に破壊する遺伝子トラップ法 (分泌トラップ法) と ES 細胞の分化誘導系とを併用し、未分化細胞に発現する膜局在タンパク質を網羅的に探索する方法を開発した。分泌トラップ法により得られた約1000のESクローンをスクリーニングすることにより、未分化細胞で強発現し、膜局在タンパク質をコードする26遺伝子に変異を導入することに成功した。このうち、13遺伝子がマウスの発生に必須であり、4遺伝子が未分化細胞の分化制御に必要な因子であった。このことは、論文提出者の作成したスクリーニング系が、哺乳類初期発生に必須な遺伝子を高効率で探索・破壊するために、きわめて有用であることを示している。さらに、論文提出者は複数作製した KO マウスのうち、未分化細胞および神経前駆細胞で強い発現が見られた Gβ1 遺伝子に注目し、この遺伝子の KO マウスに着目して詳細な解析を行っている。Gβ1 は三量体型 G タンパク質のβサブユニットの一つをコードし、G タンパク質共役受容体 (GPCR) のシグナル伝達に関与すると考えられているが、これまでその役割はよくわかっていない。Gβ1KO マウスを解析したところ、胎生中期において一部が神経管閉鎖異常を示し、さらに神経管閉鎖異常を示さない胎児においても大脳皮質の萎縮および神経前駆細

胞の増殖異常が見られ、全ての KO マウスが胎児期、あるいは出生後 2 日以内に死亡することがわかった。胎児期の神経発生に関与する複数の GPCR リガンドにより神経前駆細胞を刺激したところ、Gβ1 欠損細胞では野生型と比べ GPCR 下流の ERK のリン酸化が抑制されていた。これらの解析結果から、Gβ1 は神経前駆細胞で機能し、GPCR の下流で神経発生を制御していることが明らかとなった。

論文提出者の構築したスクリーニング系は、分泌トラップ法と ES 細胞の分化誘導系という 2 つの手法を融合したもので、これまでにない高い効率で発生に必須な膜局在タンパク質を抽出することが出来る点が画期的である。さらにこの系を用いることで、抽出した遺伝子について短期間で KO マウスを作製し、生体内での機能解析を行うことが可能である点も優れている。論文提出者は Gβ1 KO マウスを作製することにより、初めて生体内における Gβ1 の機能を明らかにした。多数存在する GPCR 下流のシグナル伝達分子のうち、Gβ1 が神経発生において重要な働きを担うという結果は、生体内での GPCR シグナル制御および神経発生を理解するうえで非常に重要な知見である。また、GPCR を介したシグナルは胚発生のみならず免疫系、内分泌系など様々な生体制御系にも関与することから、論文提出者によって作製された Gβ1 KO マウスは今後も広範な研究分野で利用されることが期待される。

なお、本論文は岩倉洋一郎博士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。