

本研究は、耳プラコード由来の内耳感覚上皮への細胞系譜をモニターするEGFPレポーターマウスを樹立し、その発現パターンの解析、発現調節メカニズムの解析、および、FACSとマイクロアレイによる耳胞領域特異的な遺伝子発現プロファイリングを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Endothelin A receptor (*Ednra*) 遺伝子のプロモーター領域にEGFPを連結させた*Ednra*-EGFP トランスジェニックマウス系統を樹立したところ、樹立した一系統であるLine 14で内耳発生期にEGFPの異所性発現が認められた。EGFPの発現は、内耳発生初期より耳プラコードにおいて確認された。耳胞形成期では、主として、形態学的に*pars inferior*、内リンパ管の予定領域である、耳胞腹側～背内側で発現していた。さらに、内耳感覚領域に存在する内耳有毛細胞・支持細胞へ至る系譜、第8脳神経の神経芽細胞へ至る系譜が、免疫染色により確認された。
2. EGFP異所性発現のメカニズムの解明目的に、サザンブロット法とゲノムウォーキング法を用い、Line 14におけるトランスジーンとゲノムの接合部位の同定を試みたところ、第13染色体*Mctp1*遺伝子の第15, 第17イントロン領域において接合部位の候補を得た。一方、成体ホモ接合型から肝臓を取り出した後RNAを抽出し、RT-PCRによる第15-18エクソンの配列の確認を行った結果、配列は正常であり、トランスジーン挿入により*Mctp1*遺伝子の機能が大きな影響を受けていないことが示唆された。
3. Line 14の聴覚平衡機能をスイムテスト、および、聴性脳幹反応を用いて測定したところ、ホモ接合型、ヘテロ接合型において明らかな異常は認められず、形態学的異常も認めなかった。よって、成体Line 14マウスは、聴覚平衡機能、および、内耳の形態に関しては、トランスジーン挿入によってもたらされる変異による影響は除外されるとみなされ、感覚領域を含む*pars inferior*、内リンパ管、第8脳神経節への分化をモニターするレポーターマウスとして有用であると考えられた。
4. 耳胞を形成する胎生10.5日胚において、FACS-array technologyを用いて、E10.5耳胞腹側～背内側に発現するEGFP陽性細胞群と、EGFP陰性細胞群の遺伝子発現プロファイルを作成した。既存の*in situ hybridization*データベースにて胎生10.5日胚耳胞に発現が報告されている遺伝子の発現領域と、今回作成したプロファイルのsignal log ratioの結果との関係の強さを評価するため、

EGFP陽性領域にて優位に発現する遺伝子群に関するROC解析を行ったところ、曲線下面積は0.749 (95%信頼区間 : 0.666 - 0.832) であった。また、Signal log ratioのカットオフ値を1.3以上にすると、Line 14においてEGFP陽性を示す領域に発現が弱い遺伝子 を分類せず、陽性的中率も比較的高い水準であることが期待された。

以上、本論文は、新たに樹立した EGFP レポーターマウスを用い、耳胞領域特異的な遺伝子発現プロファイルに関する新たな知見を創出した。本研究は、内耳感覚領域への分化制御の解析や、領域特異的遺伝子ネットワーク、新規機能遺伝子の同定に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。