

論文審査の結果の要旨

氏名 福田 剛

本論文は、遺伝子改変技術を用いて **Fbxl10** 遺伝子を破壊したマウスを作製・解析することで、**Fbxl10** の個体レベルでの生理的機能を明らかにしている。

脊椎動物においてヒストンのメチル化制御は、個体発生や細胞分化において非常に重要な役割を担っており、ヒストンメチル化酵素を欠損したマウスの多くは発生に重大な欠陥をきたす。近年までヒストンのメチル化は不可逆的修飾と考えられており、ヒストン脱メチル化酵素が存在するかは不明であった。しかし 2004 年以降、ヒストン脱メチル化酵素が次々と同定され、この新規ヒストン修飾酵素群の発生・分化における機能に注目が寄せられている。**Fbxl10** は 2006 年に **H3K36** に対する脱メチル化酵素であることが報告された遺伝子である。**Fbxl10** は細胞レベルでは増殖やアポトーシス、老化、腫瘍形成等に関与することが示唆されているが、その個体レベルでの生理的機能は不明であった。またデータベースによると **Fbxl10** はマウスの発生初期に発現が高いことが示されている。このことから本論文では **Fbxl10** が初期発生において重要な役割を持っていることを予想し、ノックアウトマウスを作製することで **Fbxl10** の生理的機能の解明を試み、以下の結果を得た。

1. **Fbxl10** のマウス発生初期における発現様式を確認するため、胎生期胚に対しノザンブロット解析を行った。**Fbxl10** の発現量は ES 細胞や胎生 (E)8.5 日において高く、胎齢の経過に伴ってその発現量は低下していた。胎生期における **Fbxl10** の発現を空間的に解析するため、E8.5~9.5 胚に対しホールマウント *in situ hybridization* を行い、**Fbxl10** がこれらの時期において頭部の神経上皮細胞および神経堤細胞に強く発現することを明らかにした。このことから **Fbxl10** は胎生期の神経上皮細胞および神経堤細胞において役割を持っていることが予想された。
2. **Fbxl10** の個体レベルでの生理的機能を解析するために **Fbxl10** 欠損マウスを作製した。**Fbxl10** 欠損マウスは約 44%の割合で神経管閉鎖不全 (NTDs)を呈し、それらの個体は出生直後に死亡した。このことから **Fbxl10** は胎生期における神経管形成において重要な役割を果たしていることが示された。
3. **Fbxl10** 欠損マウスに見られた NTDs の発生機構を調べるため、E9.5 の **Fbxl10** 欠損胚に対し免疫組織学的解析を行った。その結果、コントロール胚に比べ **Fbxl10** 欠損胚では神経上皮細胞および神経堤細胞においてアポトーシスが亢進していた。このことから **Fbxl10** は神経管形成期の神経上皮細胞および神経堤細胞のアポトーシスを負に制御していることが示唆された。
4. **Fbxl10** は転写抑制因子であるがその標的遺伝子には **c-Jun** や **rRNA**、**p15Ink4b**、

p16Ink4a、p19ARF などが報告されている。そこで Fbxl10 の欠損が標的遺伝子の転写に及ぼす影響を調べるため、E8.5 のコントロールおよび Fbxl10 欠損胚から RNA を抽出し、定量的 RT-PCR を用いてこれら標的遺伝子の発現量を解析した。その結果、アポトーシスの誘導因子である p19ARF の発現量が Fbxl10 欠損胚において有意に亢進していた。このことから Fbxl10 は発生初期において p19ARF の発現を抑制していることが示唆された。

5. Fbxl10 が p19ARF の発現と細胞死を制御することをさらに確認するため、マウス胎児線維芽細胞 (MEFs) において Fbxl10 をノックダウンした。Fbxl10 の発現を抑制した MEFs では p19ARF 発現量が有意に亢進し、さらにアポトーシスを起こす細胞の割合も上昇した。このことから Fbxl10 は MEFs においても p19ARF の発現と細胞死を抑制していることが示唆された。

以上、本論文はこれまで生理的機能の不明であったヒストン脱メチル化酵素 Fbxl10 の発生における重要性を明らかにした。Fbxl10 の欠損は神経管閉鎖不全を引き起こし、その原因として神経管を形成する神経上皮細胞と、神経堤細胞のアポトーシス亢進を発見した。さらには細胞死亢進の分子メカニズム解明の一端として p19ARF の発現量亢進を見出している。本研究は神経管形成とエピジェネティクスを関連付けるモデルとしても有用であると考えられる。

したがって博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。