

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 崇裕

本研究は頭部顔面の形態形成において重要な役割を果たすと考えられるエンドセリン-1 (ET-1) / エンドセリンA受容体シグナル (ETAR) のシグナル経路を明らかにするために、Cre-変異 lox 系を用いたマウスにおける *in vivo* 遺伝子交換系 (Recombinase-mediated cassette exchange; RMCE) を確立し、ETAR 遺伝子座に関連遺伝子をノックインすることで認められたマウスの表現型の解析から下記の結果を得ている。

1. はじめに変異 lox 配列で挟まれたネオマイシン耐性遺伝子の導入によって作製した *ETAR* 遺伝子欠損マウスにおいては、既報にもあるホメオティック変異による下顎の上顎化という表現型が予想通り示された。
2. *lacZ* 遺伝子ノックインマウスを用いた *lacZ* 染色からは胎生期の *ETAR* 陽性細胞を可視化することが出来、頭部および心臓の神経堤細胞に由来する細胞群と中胚葉由来の頭部間葉細胞群における *ETAR* 発現細胞の局在を明らかにできた。
3. ノックアウトの表現型の正常化を見込んで *ETAR* 遺伝子のノックインを実施した。胎齢 18.5 日の頭部骨格標本の形態観察から *ETAR* 遺伝子欠損によって認められるホメオティック変異による下顎の上顎化が完全に正常化していることが確認された。
4. エンドセリンシステムにおいて *ETAR* とリガンドを共有するエンドセリンB受容体 (*ETBR*) 遺伝子のノックインによって *ETAR* 遺伝子欠損の表現型である下顎の上顎化の正常化は認められず、下顎領域に形成された切歯を持つ骨化領域の伸張が認められ、部分的な正常化であると考えられた。同様の表現型は神経堤細胞特異的な *G_q/G₁₁* 遺伝子欠損マウスにおいても認められ、この表現型が *G_q/G₁₁* タンパクに依存しない経路によるものであることが示された。
5. *ETAR* のリガンドである *ET-1* 遺伝子のノックインによって引き起こされる *ETAR* の恒常的な活性化が頭部顔面形成におよぼす影響を検討した。*ET-1* 遺伝子ノックインにより上顎の下顎化という *ET-1/ETAR* シグナル欠損マウスの表現型 (下顎の上顎化) とは逆の表現型が得られた。
6. *ET-1/ETAR* シグナル下流遺伝子である *Hand2* 遺伝子のノックインは、ノックインキメラの致死性によりキメラベースの解析の実施に留まったものの頭部顔面領域の表現型については *ET-1* 遺伝子ノックインマウスと共通点が多く見出され、特に上顎領域の遠位部における骨格形態が酷似していた。

以上、本論文は *ETAR* 遺伝子座に対する RMCE によって得られた種々のノックインマウスの表現型の解析から、*in vivo* での頭部顔面の形態形成における *ET-1/ETAR* シグナルの役割について明らかにした。本研究は今後の *ET-1/ETAR* シグナル伝達機構や生理的役割の

更なる解明に有用な RMCE の確立や、頭部顔面の形態形成における ETAR および ETBR の互換性に関する知見のみならず、上顎および下顎の特性を決定するための分子スイッチとして働く ET-1/ETAR シグナルの役割を明確に示したことから学位の授与に値するものと考えられる。