

論文審査の結果の要旨

氏名 谷邊美早紀

本研究では、神経パターンニング決定における Wnt シグナルとレチノイン酸シグナルの関係について、2つの研究から明らかにしている。研究1ではレチノイン酸不活性化酵素である *xCyp26c1* の機能解析、研究2ではレチノイン酸シグナルを阻害する *xCOUP-TF-B* の機能解析を行った。

神経パターンニングに重要な神経前後軸決定には FGF, Wnt, レチノイン酸の濃度勾配が必須であると知られている。しかし、それらのシグナル分子がパターンニングを決定するメカニズムは明確になっていなかった。そのため本研究に先立ち、Wnt シグナルの制御下で神経パターンニング決定に関与し得る遺伝子を DNA マイクロアレイ解析によって探索した。その結果同定された候補遺伝子の中に前述の *xCyp26c1*, *xCOUP-TF-B* といったレチノイン酸関連遺伝子が見出された。このことより、本研究では神経前後軸決定において Wnt シグナルとレチノイン酸シグナルは独立に寄与するのみならず、Wnt シグナルはレチノイン酸シグナルの強度を調節しているのではないかと推測された。

研究1では、*xCyp26c1* の機能解析を行った。*Cyp26c1* はレチノイン酸の不活性化を行うことが過去に報告されており、以前に論文提出者が行った研究においては、*xCyp26c1* が頭部のレチノイン酸濃度を調節することで神経パターンニングに影響を与えていることが示唆された。そのため、過剰発現実験と機能失欠実験を行い、アフリカツメガエル胚で *xCyp26c1* が神経パターンニングに及ぼす影響を確認した。その結果、*xCyp26c1* mRNA の顕微注入による過剰発現では後脳マーカーの発現を後方にシフトさせ、モルフォリノアンチセンスオリゴの顕微注入による機能欠失では頭部の神経マーカー全体が消失するという広範囲な影響が確認された。このことから、論文提出者は後脳で発現した *xCyp26c1* は、胚後方で合成されるレチノイン酸が頭部前方に流入しないための防波堤の働きをしていると推測した。

神経パターンニングに関する *xCyp26c1* の機能において、*xCyp26c1* の発現領域決定が重要ではないかと論文提出者は考えた。そのため *xCyp26c1* の発現制御機構の解析を行った。初期発生における神経誘導を模倣し、様々なシグナル分子の抑制条件を比較した結果、

xCyp26c1 の発現量の顕著な増加には、(1) BMP シグナルの阻害による未分化な外胚葉の神経外胚葉化、(2) Wnt シグナルの適切な強度での抑制、が重要な働きをしていることが明らかとなった。この結果は、レチノイン酸の濃度調節を行う xCyp26c1 の発現領域が Wnt シグナルの濃度勾配によって制御されうることを示していた。

研究 2 では、核内レセプターの 1 つである xCOUP-TF-B の機能解析を行った。この遺伝子も前述の DNA マイクロアレイ解析によって見出されたことから、 β -catenin (カノニカル Wnt シグナルの構成因子) による xCOUP-TF-B の発現量の変化を RT-PCR によって確認したところ、この遺伝子の発現もまた xCyp26c1 のように Wnt シグナルによって制御されることが明らかとなった。また COUP-TF はレチノイン酸シグナルに対して阻害的な機能を持つことが過去に報告されており、本研究においてもレチノイン酸による後方化 (前方頭部領域の縮小) の影響を、神経マーカーの発現レベルでは軽減することが確かめられた。

xCOUP-TF-B と xCyp26c1 はどちらもレチノイン酸シグナルを抑制する機能を持つが、その抑制経路はそれぞれ独立している。しかし xCOUP-TF-B と xCyp26c1 を共注入すると頭部形成における効果が強められることが明らかになった。この結果により、この 2 つの遺伝子間の関係性を明らかにするために xCOUP-TF-B mRNA の過剰発現を行ったところ、xCyp26c1 の発現量を増加させることが確かめられた。これらの結果から、xCOUP-TF-B と xCyp26c1 には相乗作用があることが示唆された。

研究 1 と研究 2 の双方において、レチノイン酸シグナル伝達を抑制する働きを持つ遺伝子の発現が Wnt シグナルによって制御されることが明らかになった。また xCOUP-TF-B が xCyp26c1 がレチノイン酸シグナルの抑制に相乗的な効果を持つことが示唆された。これらの結果から論文提出者は、神経前後軸形成において、Wnt シグナルは xCyp26c1, xCOUP-TF を介してレチノイン酸シグナルの濃度を調節し、脳形成に寄与すると推定した。本研究で明らかにされたシグナル分子の関係は神経パターンニング決定においては新規性があり重要な知見であり、今後の脳形成の仕組みの理解においても貢献することが期待できる。

本論文は石浦章一、浅島誠、道上達男らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び検証を行ったものである。そのため論文提出者の寄与が十分であると判断し、本審査委員会は博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいものと認定する。