

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 齊藤 陽平

---

*mab-21* 遺伝子は脊椎動物において *Mab2111* と *Mab2112* の 2 つの遺伝子ファミリーを形成しており、遺伝子産物のアミノ酸配列が高度に保存されているが、これらの遺伝子は他の既知遺伝子と相同性がなく、また既知のモチーフやドメインを持たないため、アミノ酸配列からタンパク質としての機能を予測することが難しく、その分子機能はよくわかっていない。*Mab2112* は発生段階で中脳、網膜、鰓弓、脊髄、体壁、肢芽で発現していることが報告されており、*Mab2112* を欠損させると網膜と体壁の形成に異常を示すが、その個体は胚性致死となり胚生期 11.5 日目 (E11.5) ~ E14.5 の間にすべて死亡してしまう。本論文は *Mab2112* ノックアウトマウスの死因を明らかにするための解析を行い、それによって *Mab2112* の哺乳類発生過程において果たしている機能を明らかにしたものである。

序論では、関連分野の既知の知見を述べ、研究の目的について記述した。

第 1 章では、心臓形成過程における *Mab2112* 遺伝子の果たしている役割について述べた。*Mab2112* を欠損させたマウス (*Mab2112*  $-/-$ : K0) では E11.5 において左心室の compact myocardium の薄化と trabecular myocardium の減少が認められ、また E12.5 では左心室だけでなく、右心室においても同様の異常が認められた。そして、E11.5 の K0 では異常を生じている領域での細胞増殖の低下及びアポトーシスの亢進が認められるとともに、細胞増殖やアポトーシスを制御している遺伝子である (*N-myc*, *Id2*, *CyclinD1*) の発現低下も認められた。したがって、*Mab2112* は細胞増殖やアポトーシスを制御している遺伝子の発現を調節することによって、心室の compact myocardium や trabecular myocardium の形成に重要な働きをしていると思われる。そして、これらの心筋領域はポンプとして機能し、体内の血液循環を担う重要な領域であることから、K0 の死因はこれらの領域の形成異常であると考えられた。

*Mab2112* は心筋細胞だけでなく、septum transversum mesenchyme (STM) でも発現していた。STM の心臓寄りの領域である proepicardium には心筋層を外側から覆う細胞層である心外膜の前駆細胞が存在しており、その前駆細胞は E9.0~E9.5 になると、心臓周囲に移動・接着し、その後増殖・分化を経て E10.5~E11.5 には心外膜を形成する。心外膜細胞はそれ自体が心臓血管系の細胞に分化するとともに、隣接する心室の心筋細胞の増殖を促進することで、心臓形成に不可欠な組織である。*Mab2112* を欠損させると、E9.5 において proepicardium の著しい低形成が認められ、E10.5~E11.5 では心外膜の欠損が認められた。また、K0 の低形成を起こした proepicardium では細胞増殖が低下しているとともに、心外膜形成時の細胞接着に不可欠な遺伝子である  *$\alpha 4$  integrin* の発現が著しく低下していた。したがって、K0 で proepicardium がわずかに存在するにもかかわらず心外膜が欠損していたのは、 *$\alpha 4$  integrin* の発現低下に起因して、心外膜の前駆細胞が心臓周囲に移動後、心

筋細胞に接着できなかつたためであると考えられた。

第2章では、腹側 STM の形成を介した *Mab2112* 遺伝子の肝臓、胆嚢形成における役割について述べた。腹側の残りの STM は E9.0~E9.5 では肝細胞や胆管細胞に将来分化していく肝芽細胞と隣接して存在しており、肝芽細胞の増殖や生存を促進することで肝臓形成に不可欠な組織であると考えられた。E9.5 の *Mab2112* を欠損マウスでは肝芽細胞と隣接する STM が欠損することも認められ、E10.5 では肝臓の著しい低形成が認められた。また、E9.5 の肝領域において細胞増殖の低下が認められた。したがって、KO では肝芽細胞周囲の STM が欠損したこと起因して肝芽細胞の増殖が低下し、肝臓の低形成に至ったと考えられた。

胆嚢と腹側膵臓の形成過程は、まず胆嚢細胞と腹側膵臓細胞の共通の前駆細胞 (*Sox17*, *Pdx1* 両陽性) が誘導され、前駆細胞におけるそれぞれの遺伝子の発現を維持・抑制することで、*Sox17* 陽性・*Pdx1* 陰性の胆嚢細胞と *Pdx1* 陽性・*Sox17* 陰性の腹側膵臓細胞にそれぞれ分化していくことがわかっているが、その分化メカニズムは明らかになっていなかった。STM は共通の前駆細胞の時期 (E8.5) では隣接して存在していないが、E9.0 以降は予定胆嚢領域と隣接して存在する一方、腹側膵臓領域とは隣接していないことが認められた。*Mab2112* を欠損させると、E9.0 以降 STM が予定胆嚢領域周囲で欠損することから、KO を STM 欠損モデルとして用い、胆嚢形成及び腹側膵臓形成への影響を解析した。E10.5 の KO では、*Sox17* 陽性胆嚢領域が一切形成されなかったが、腹側膵臓領域の形成は認められた。そして、KO では胆嚢形成に不可欠である *Sox17* の発現が E9.0 以降著しく低下するとともに、E9.5 では本来発現が抑制されるはずの予定胆嚢領域においても *Pdx1* の発現が維持されていた。これまでの知見により、*Sox17* を欠損させると *Pdx1* の発現が異常に維持されることが報告されていることから、KO では STM を欠損したことにより予定胆嚢領域における *Sox17* の発現が著しく低下し、それに起因して *Pdx1* の発現が異常に維持されたと考えられる。したがって、STM は共通の前駆細胞の誘導以降、胆嚢細胞や腹側膵臓細胞へそれぞれ分化する段階で、*Sox17* と *Pdx1* の発現を制御することによって特に胆嚢細胞への分化を誘導していることが明らかとなった。そして本研究により、これまで報告されていた肝臓の形成誘導 (E8.5) だけでなく、胆嚢形成の誘導 (E8.5~E9.0) にも STM が関与し、前腸の腹側領域から肝臓、胆嚢、腹側膵臓を領域特異的に形成する上で重要な働きをしていると考えられた。

以上、本研究は、*Mab2112* 遺伝子が哺乳類において、心臓、肝臓および胆嚢の形成にきわめて重要な役割を果たしていることを明らかにしたものであり、学術的、応用的に貢献するところは少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (農学) の学位論文として価値のあるものと認めた。