

# 論文審査の結果の要旨

氏名 直 良 悠 子

器官再生能は動物種や発生段階、器官の種類により異なるが、その理由は不明である。アフリカツメガエル *Xenopus laevis* の幼生(オタマジャクシ)は高い尾の再生能をもつが、発育過程でその再生能を一過的に失う(再生不応期)。当研究室の深澤らは、これまでに再生不応期と不応期後可能期では尾切断後に異なる免疫応答が生じること、不応期の個体を免疫抑制剤(FK506 など)処理すると再生能が顕著に回復することを報告している。修士課程の研究で論文提出者は、再生不応期に獲得免疫系が分化することを示した。一方、深澤らは可能期には制御性 T 細胞が出現することを示した。以上の知見から深澤・直良らはツメガエル幼生尾の再生能の発育に伴う変遷に関する新規な仮説を提示した。すなわち、再生不応期には獲得免疫系が分化し始めるが、未熟な免疫細胞が再生芽細胞を「非自己」と誤認して攻撃するため、再生能が阻害される。一方、可能期には制御性 T 細胞がこれらの免疫細胞の働きを抑制するため再生能が回復する、というものである(Fukazawa *et al.*, 2009)。しかしながら再生芽を攻撃する免疫細胞の実体や、標的とする再生芽細胞の「自己抗原」など、再生能を阻害する免疫応答の分子機構は不明であった。そこで論文提出者は、この分子機構の解明を目的として博士課程の研究を行った。

本論文は 1 章構成であり、3 つの遺伝子の同定と解析がなされている。まず再生能を規定する免疫応答に関わる遺伝子を同定するため、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いて不応期の切断前には発現せず、切断 24 時間後の FK506 処理群(再生能あり)と無処理群(再生能なし)の尾で発現が異なる遺伝子を検索した。この時、FK506 の副作用を避けるため、可能期の FK506 処理群と無処理群(伴に再生能あり)では発現変動しない遺伝子を選んだ。その結果、3 種類の遺伝子、クローン 1: *phytanoyl-CoA dioxygenase* に相同性を示す新規遺伝子(*XPhyH-like*)、クローン 2: 非翻訳性 RNA と思われる有意な ORF をもたない新規遺伝子、クローン 3: 樹状細胞特異的 C-type lectin 遺伝子を得た。

*XPhyH-like* の発現は不応期無処理群の尾の切断後に一過的に上昇し、その上昇は FK506 処理で抑えられた。また、この一過的発現上昇は可能期より不応期で高く、頭部や胴部、尾部に比べ血球分画で有意に高く発現した。このことは、*XPhyH-like* が不応期の尾切断端に一過的に浸潤し、再生を阻害する免疫細胞に発現することを示唆する。*XPhyH-like* は発育過程では不応期選択的に発現し、不応期には *XPhyH-like* を発現する自己反応性の免疫細胞が全身に漏出している可能性が考えられた。機能解析のため、モルフォリノアンチセンスオリゴを用いた遺伝子ノックダウンを行うと、実験群は発生過程でほとんどの個体が死亡した。このことは *XPhyH-like* が発生過程で重要な働きをもつことを示している。クローン 2 の発現も不応期無処理群の尾切断端で上昇し、その上昇は FK506 処理で抑えられた。また頭部や胴部、尾部に比べ血球分画で高く発現する傾向が見られた。またクローン 2 はどの発生段階でも同様に発現していた。このことはクローン 2 が不応期の尾切断端に浸潤し、再生を阻害する自然免疫細胞に発現することを示唆する。クローン 3 は FK506 処理の有無によらず、切断後 48 時間にかけて尾切断端で緩やかに発現上昇したことから、切断尾の組織リモデリングに働く可能性が考えられた。クローン 3 は様々な組織で発現したが、これは樹状細胞が様々な組織に分布することと一致する。また胚発生期にはほとんど発現せず、不応期や変態期に発現した。このことは、クローン 3 を発現する樹状細胞が、不応期や変態期に、自己反応性の免疫細胞により障害された組織のリモデリングに働く可能性を示唆している。

本研究は再生能を阻害する免疫応答の分子機構を解析した初めての例である。特に、*XPhyH-like* は自己反応性の免疫細胞選択的に発現する遺伝子として今回、初めて同定された。今後、再生芽細胞を攻撃する免疫細胞のマーカーとして、再生能を失った成体(カエル)や、再生能をもたない哺乳類での自己反応性の免疫細胞の動態解析のために利用可能と思われ、再生生物学の発展に大きく寄与すると期待される研究成果である。なお、本論文は深澤太朗・菱田祐子・國枝武和・久保健雄(東京大学)との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究戦略の設定、実験、考察を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。