

論文内容の要旨

申請者氏名 松本 健

＜背景＞脊椎動物の脳の形態形成においてオーガナイザーと呼ばれる領域は重要な役割を果たしている。特に中脳、小脳境界に位置する isthmus と呼ばれるオーガナイザー領域から分泌される FGF8は中脳、小脳の形成に必須である。だが FGF8によって誘導されてくる器官は前後軸の位置に依存して全く異なる。この原因として、FGF8に対する神経上皮の応答能(competence)の違いが考えられる。このことから小脳形成の分子機構を理解する上で、応答性の獲得のメカニズムを明らかにする必要があると思われた。

＜目的＞中脳、小脳の応答能の差異をもたらす転写因子候補を探索したところ、小脳特異的に発現する IRX2 を発見した。応答性獲得の分子機構を検証するために小脳形成をモデルとして IRX2 遺伝子の機能解析をおこなった。

＜結果＞ニワトリ IRX2mRNA は発生過程において小脳原基に局在していた。ニワトリ胚を用いたエレクトロポレーション法により、IRX2 を本来発現していない予定中脳領域に異所的発現させたが、脳の前後軸に変化はみられなかった。しかし IRX2 と FGF8a の共発現を中脳領域におこなったところ、中脳領域に小脳を誘導することができた。FGF シグナルの核内仲介因子としてリン酸化酵素の MAPK が知られている。培養細胞と組み換え蛋白を用いた実験にて、MAPK により IRX2 蛋白がリン酸化修飾をうけ、さらにこのリン酸化修飾が IRX2 の転写活性化能の獲得に必要であった。またニワトリ胚においても、このリン酸化修飾部位が転写活性化を介して形態形成に寄与していた。さらに構成的抑制型 IRX2 を用いた実験により中脳、後脳の決定にこの転写活性が必要であった。また変異体を用いた遺伝子発現プロファイルの変化の解析により、小脳形成過程において IRX2 は FGF シグナルの強化、維持に関与していることが明らかになった。

＜考察＞IRX2 は FGF/MAPK により、リン酸化され転写活性化能を獲得するものと思われる。この転写活性化より神経上皮は小脳へと運命決定され、逆に IRX2 の転写活性が抑制された場合は神経上皮は中脳へと運命決定されると思われる。

＜意義＞リン酸化による IRX2 の転写活性化機構が中脳/小脳の領域決定の分子スイッチとなりうることが考えられた。この分子スイッチは転写制御を介さずにリン酸化という迅速な反応により制御されるため、発生過程のような短時間で終了する現象を制御するのに効果的であると考えられる。リン酸化による転写因子の活性化機構は応答性獲得の分子機構の一旦を担っていると思われる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 松本 健

小脳は中枢神経系の中でも動物の知覚を伴う運動制御において重要な役割を果たしている。また小脳は原始的な脊椎動物から高等脊椎動物まで消失せずに進化の過程で保存されていることから、その機能の重要性が推察される。小脳の区画形成がどのような分子機構に基づいて形成されるのかは明らかではない。近年の研究の成果から主だった脳の区画形成機構の一つとして神経上皮の応答性が挙げられる。本来、神経上皮は固有の性質を持つだけでなくオーガナイザーと呼ばれる領域からのシグナルに対する応答性を変化させて様々な形質を獲得する。この神経上皮の応答性をうみだす分子機構の解析が期待される。

本研究により、Iroquois 遺伝子ファミリーの一員であるニワトリ IRX2 が FGF8 の新規の核内標的遺伝子であることが明らかになった。また FGF/MAPK シグナルによってニワトリ IRX2 はセリン 46,65,326 の部位がリン酸化修飾され、転写活性化因子として機能しうることが明らかになった。このことは IRX2 が転写活性化能を獲得することで、小脳の運命決定に寄与していることを示し、この活性化能獲得の機構が応答性獲得の分子機構の一端を担っていると考えられる。付け加えて、活性化された IRX2 による FGF8 シグナルの再強化、維持が小脳の形質維持に必要であり、この過程を不活性化することにより、小脳の細胞が中脳の細胞に運命転換することが明らかになった。このことは IRX2 が中脳／小脳の運命決定のスイッチとなりうることを示唆している。これらの結果から、一般的に多様な細胞の形質獲得の過程において、リン酸化を介した転写因子の機能制御は適切な分子機構の一つとして考えられる。

以上のように、本論文は小脳形成過程における FGF シグナルによる分子機構解明の一助となるもので、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって、審査員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。