

論文内容の要旨

申請者氏名 佐藤 渉

脊椎動物の体は、椎骨にみられるよう繰り返し構造を基盤に構成されており、この繰り返し構造の成立は、胚発生中期の体節形成に遡る。体節は未分節中胚葉から、周期的な分節化により形成される。正常な体節繰り返し構造が形成されるためには、頭尾軸に沿った体の伸長（以下体軸伸長）が体節形成と同調していなければならない。不揃いな体節形成が起こらないようこの同調の重要性は自明であるが、どの様な分子機構により同調が起こっているのか これまでまともに問われることはなかった。

本研究は、Wntの制御因子として知られるマウス *Sfrp* (Secreted Frizzled-related protein) 遺伝子の機能解析のための変異マウス作成に始まる。マウスでは5種類の関連遺伝子が知られ、分子系統樹上では、2つのサブファミリーに分類される。生化学的な解析から、*Sfrp* はWntに直接結合してシグナル経路に阻害活性を示すが、サブファミリーの違いは、リガンド特異性の違いを反映すると予想されている。このうち、*Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5*が属するサブファミリーに注目して解析を行った。まず、*Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5* 遺伝子単独のホモ変異、*Sfrp1-Sfrp5* と *Sfrp2-Sfrp5* の二重ホモ変異マウスは、ほぼ正常に発生することが明らかとなった。一方、*Sfrp1-Sfrp2* の二重ホモ変異胚では胸部で、*Sfrp1-Sfrp2-Sfrp5* の三重ホモ変異胚では体幹部全域で、体軸伸長不全と体節形成異常を示した。特に、*Sfrp1-Sfrp2-Sfrp5* の三重ホモ変異胚の表現型は、収斂伸長異常による体軸伸長異常を強く示唆した。以上から、*Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5* が高度の機能重複を示す遺伝子ファミリーであること、*Sfrp* が体節形成と体軸伸長を関連づける機能を担う可能性が示唆された。

Wntシグナルには複数の経路が知られ、それぞれの経路に関わる発生過程も多岐に渡るが、体節形成には β -catenin経路が関わり、体軸伸長のための収斂伸長にはPCP経路が関わる事が知られている。そこで、*Sfrp* が β -catenin経路を調節して体節形成を制御する可能性について、Wnt/ β -catenin経路の分泌阻害因子 *Dkk1* と *Sfrp1*、*Sfrp2* の間で多重変異体を作成・解析し、*Sfrp* による β -catenin経路抑制が正常な体節形成に必要なことを明らかにした。また、*Sfrp* によるPCP経路調節が収斂伸長を制御する可能性について、PCP経路の構成因子 *Vangl2* と *Sfrp* の多重変異体胚を解析した結果から、*Sfrp* がPCP経路を調節して収斂伸長の制御を行うことを明らかにした。体節形成で β -catenin経路の活性化に働くWntリガンドと、体軸伸長のための収斂伸長でPCP経路の活性化に働くWntリガンドは異なる可能性が示唆されており、*Sfrp* により両リガンドが制御され β -catenin経路とPCP経路が同調して調節されることで、収斂伸長を介した体軸伸長と体節形成とが同調すると考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 佐藤 渉

規則的な体節繰り返し構造が形成されるためには、頭尾軸に沿った体の伸長（体軸伸長）と体節形成が同調していなければならない。本研究は、これまで論じられることの殆どなかったこの同調の分子機構について論じたものである。すなわち本研究では変異マウスを作成・解析し、分泌性 Wnt 阻害因子 *Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5* が胚発生過程で互いに相補的に、体軸伸長と体節形成に関わることが明らかにされた。ついで、体軸伸長には Wnt/PCP 経路を調節することにより、体節形成には Wnt/ β -catenin 経路を制御することにより、これらの *Sfrp* 因子が働いていることが示された。

Wnt シグナルには複数の経路が知られ、それぞれの経路に関わる Wnt リガンドは異なることが示唆されているが、分泌性阻害因子 *Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5* はこれら複数のリガンドに結合し、いずれのシグナル経路制御にも関わると想定される。従って *Sfrp* 多重変異体では複数の Wnt シグナル経路が異常となり、観察された表現型がどの経路の制御によるのかを明らかにすることが困難であると想定される。申請者はこの困難をそれぞれの経路に特異的な Wnt シグナル制御因子と *Sfrp* の多重変異体として克服している。*Sfrp1*、*Sfrp2*、*Sfrp5* 間の多重変異体を含め、本研究は徹底したマウスでの遺伝学的研究で、マウスでこれだけの多重変異体解析を行うことの労苦は相当なもので、申請者の努力を評価したい。

従来、マウス以外にもニワトリ、*Xenopus* などでの様々な解析から、Wnt/ β -catenin 経路が体節形成に働くことが知られている。*Dkk1* は β -catenin 経路を活性化する Wnt リガンドに特異的な阻害因子であり、本研究の *Dkk1* と *Sfrp* との多重変異体を用いた解析結果は、*Sfrp* が Wnt/ β -catenin 経路を抑制して体節形成に働いていることを強く示唆する。一方、体軸伸長は主として収縮伸長により、これには Wnt/PCP 経路が働いていることが知られている。*Vangl2* はこの経路に特異的な細胞膜因子であり、本研究の *Vangl2* と *Sfrp* との多重変異体を用いた解析結果は、*Sfrp* が Wnt/PCP 経路を制御して体軸伸長に働いていることを強く示唆する。

β -catenin 経路の活性化に働く Wnt リガンドと、PCP 経路の活性化に働く Wnt リガンドは異なる可能性が示唆されている。脊椎動物はその進化の初期過程で Wnt シグナルを体軸伸長と体節形成という異なる形態形成活動にもちいたと想定されるが、この際同時期に起こる両事象を細胞レベルで区別するために異なるリガンドを用い、異なるシグナル経路を用いるようにしたのであろう。しかし、規則的な体節繰り返し構造が形成されるためには、体軸伸長と体節形成は同調しなければならず、その分子機構として *Sfrp* 因子により両 Wnt シグナル経路を同調させることにしたのかもしれない。Wnt シグナルは他にも多岐にわたる発生現象に働いており、様々な場面で *Sfrp* による Wnt シグナル制御が予想され、今後の研究発展が期待される。以上により、審査委員一同は、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。