

論文内容の要旨

申請者氏名 林 真一

脊椎動物の胚発生期において未分節中胚葉が一定の間隔で繰り返し分節化されることによって体節が生じる。体節は胚期に一過的に存在する細胞塊で、発生 of 進行に伴って脊椎、体幹筋肉、背側上皮に分岐する。マウスの体節形成は分節化時計によって時間的に制御され、正確に二時間周期で繰り返す。Notch シグナルは FGF シグナル、Wnt シグナルと協調して体節形成を制御していることが知られている。本研究では体節形成における Notch シグナルによる周期性の制御、及び FGF シグナルとのクロストークを解明することを目的とした。

これまでの研究から Notch シグナルによって制御される分節化時計が体節形成に重要であることが知られていたが、近年、Notch シグナルの阻害実験においても不完全ながら体節形成が継続することが報告された。そこで体節形成における Notch シグナルによって制御される分節化時計の役割の再検証を行った。Notch シグナル制御下で周期性を生む *Hes7* を欠損したマウスにおいて不完全ながら体節は形成される。しかし *Hes7* 欠損マウスにおいて非周期的な Notch シグナルが維持されていること、Wnt/FGF 依存的な遺伝子の振動が維持されていたことからそれらが体節形成に寄与している可能性が考えられた。そこで Notch シグナルが完全に消失する *Presenilin (Psen)1/2* の両欠損マウスにおいて解析した結果、*Psen1/2* 欠損マウスにおいて体節形成は観察されず、*Hes7* の発現は見られたが未分節中胚葉の尾部側末端に限局され、振動パターンは観察されなかった。そのため、Notch シグナルは分節化時計に必須であると考えられる。また Notch シグナルは *Hes7* の上流-1504 から-1071 の領域を介して Tbx 転写因子と協調して働くことで *Hes7* の未分節中胚葉特異的な発現を規定している。これらの結果から Notch シグナルは分節化と時計遺伝子の振動を引き起こすことで体節形成に欠くことのできない重要な役割を担っていると考えられる。

Notch シグナルは正確な周期性を持った遺伝子振動に重要であるが、体節形成にはそれだけではなく、空間的な制御が同調して働く必要がある。しかし、時間的制御と空間的制御の相互作用に関しては不明な点が多い。そこで Notch シグナルによって制御される周期性がどのように空間的制御に変換されるのかを調べた。FGF シグナルは未分節中胚葉の尾部側から頭部側にかけて濃度勾配を形成し、この濃度勾配が分節化の空間的な位置を決定する役割を担っている。そのため、FGF シグナルの制御因子をスクリーニングした結果、未分節中胚葉で *Sprouty4* は個体毎に異なる発現パターンが観察された。二時間周期を持つ *Lfng* と同じ位相を示すことから、*Sprouty4* は二時間周期で振動していると考えられる。また *Hes7* 欠損マウスにおいて *Sprouty4* の発現は未分節中胚葉全域で見られ、周期的なパターンは失われたことから *Hes7* の周期的な抑制制御が *Sprouty4* の振動を生じさせていると考えられる。

体節形成における遺伝子ネットワークは複雑に相互作用し、これらの制御によって正確で規則正しい体節が形成されることが考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 林 真一

脊椎動物のからだは、脊椎骨に代表されるように、前後軸に沿った繰り返し構造から構成されている。この繰り返し構造は、発生中期の構造物である体節の繰り返し構造に依存している。体節は周期的な分節化によって等間隔パターンとして形成されるが、体節原基での周期的な遺伝子発現の変化が分節時計としてこの周期性を制御している。本論文ではモデル動物としてマウスを用いて遺伝子発現の制御に焦点を絞り、分節時計において、遺伝子発現の促進シグナルである Notch シグナルの役割、中心的遺伝子である *Hes7* の発現調節機構、位置情報をもつ FGF シグナルのフィードバック因子である *Sprouty4* の発現調節の3点について明らかにしており、分節時計およびそれが繰り返し構造としての体節の形成を制御するしくみの一端を明らかにしたものである。

Notch シグナルは多細胞生物間で保存された細胞間シグナル経路であるが、これまでの変異体解析の結果から、分節時計に必須であることが明らかになっている。しかし、これらの変異体においても不完全な体節が形成されることから、体節形成には Notch シグナルが必須であるかどうかは議論があった。本論文では、マウスの体節形成に Notch シグナルが必須であることが示された。また、分節時計は抑制制の転写因子 *Hes7* のネガティブフィードバックループを主な機構としているが、*Hes7* は Notch シグナルの下流遺伝子として体節原基である未分節中胚葉に局限して発現している。本論文では *Hes7* プロモーターの未分節中胚葉特異的なエンハンサー領域を同定し、Notch シグナルと *Tbx* 転写因子が協調して *Hes7* の発現を規定していることを示した。さらに、体節分節化の位置は FGF シグナルの濃度勾配によって規定されていると考えられているが、FGF シグナル経路のフィードバックインヒビターである *Sprouty4* の発現が分節時計依存的に振動していることを本論文で発見している。このことは、分節時計の時間的周期性を FGF シグナルがもつ位置情報に伝達することによって、遺伝子発現の振動の時間的周期性が体節の空間的周期性に変換されて等間隔パターンが生み出されていることを示唆するものである。

以上のように、本論文は脊椎動物の体節形成を制御する分節時計のしくみの一端を明らかにしたもので、学術上、貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、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。