

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

氏 名 白石（山本）洋一

論 文 題 目

Wnt and BMP signaling cooperate with Hox in the control  
of Six2 expression in limb tendon precursor

(Wnt 及び BMP シグナリングは Hox と協調して四肢腱前駆体  
における Six2 発現を制御する)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 薬学博士  
黒 岩 厚

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 工学博士  
松 本 邦 弘

委 員 自然科学研究機構基礎生物学研究所  
教授 薬学博士  
高 田 慎 治

## 論文審査の結果の要旨

運動器としての四肢を構成する主要な組織は骨と骨格筋、そしてこれらを有機的に連結して力の伝達を行う腱と靭帯である。四肢骨の原基である四肢軟骨は肢芽間充織に由来し、肢芽間充織は自律的に固有な四肢軟骨パターンを形成する。また、四肢筋は体節に由来する筋芽細胞により形成されるが、四肢筋パターン形成過程では肢芽間充織及び軟骨との相互作用が必要である。腱・靭帯は肢芽間充織に由来することが知られているが、先行して形成される軟骨や筋との相互作用による腱・靭帯前駆体への細胞分化機構や、そのパターン形成を制御する機構は未解明の部分が多い。また腱の形状と数は四肢の遠位部と近位部では異なっており、自脚（手部・足部）には軛脚（前腕部・下腿部）より多くの腱が存在するが、このような位置特性を決定する要因は未解明であった。申請者は、四肢腱前駆体に特異的なマーカー遺伝子である転写因子 *Six2* の発現誘導を指標にして、腱前駆体への細胞分化誘導と位置特異的な腱パターン形成を制御する機構の解明を目指しニワトリ胚操作を駆使し、また遺伝子改変マウスを用いて研究を展開した。

申請者はまず *Six2* が四肢腱で特異的に発現し、その発現が肢芽間充織の腱前駆体にまで遡ることが可能であることを見だし、*Six2* が肢芽間充織からの腱前駆体の誘導及び腱パターン形成のマーカーとして有用であることを明らかにした。*Six2* 発現は常に表皮外胚葉と軟骨の間隙に位置する間充織に誘導されるが、肢芽先端部の外胚葉性頂堤近傍や指間間充織では発現が認められない。これらのことから表皮と軟骨に由来する組織間相互作用因子が *Six2* 発現誘導を行っている と推測し、申請者はこれについてニワトリ胚組織操作の手法を用いて実証した。次いで申請者は分泌性因子 Wnt を表皮由来の因子、肢芽間充織や外胚葉性頂堤で発現する BMP に対する拮抗因子であり軟骨で発現する分泌性因子 Noggin を軟骨由来の因子と仮定した。申請者は、ニワトリ胚肢芽への Wnt もしくは Noggin の局所投与は *Six2* の発現誘導を引き起こし、Wnt 阻害因子もしくは BMP4 の局所投与は内在性の *Six2* 発現抑制を引き起こすことを見だし、このことからこの仮定が正しいことが示された。興味深いことに Wnt の局所的投与は自脚間充織で *Six2* 発現を誘導するが軛脚間充織では誘導できないことを見だし、申請者は Wnt 依存性の自脚に固有な *Six2* 発現誘導機構があると考えた。自脚間充織で特異的に発現し、自脚固有な軟骨パターン形成を制御する転写因子として知られている *Hoxa-13* や *Hoxd-13* がこの機能を担うものと考え、Wnt と *Hoxa-13* もしくは *Hoxd-13* を軛脚で同時に作用させたところ、*Six2* の異所的発現が誘導された。更に *Hoxa-13* と *Hoxd-13* を同時に欠損する標的遺伝子破壊マウスでは、自脚背側での *Six2* 発現が消失し、これらが自脚背側における腱前駆体誘導に必須であることが示された。

申請者の研究により、軟骨由来の Noggin により軟骨周囲での BMP 入力 が遮断されて *Six2* 発現の許容的環境が作り出され、この領域に表皮由来の Wnt シグナルが入力すると *Six2* 発現が誘導され、腱前駆体への分化が軟骨と表皮の間隙に起きるという遺伝子機構が示された。また *Hox13* が自脚での多くの腱前駆体誘導に関与することも示され、四肢腱前駆体誘導の位置特性の分子機構が明らかとされた点で意義深い。以上の理由により、申請者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。