

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 長 尾 勇 佑

論 文 題 目

メダカ体色異常自然突然変異体 *ml-3* を用いた色素細胞運命決定機構の解明

論文審査担当者

主 査	名古屋生物機能開発利用研究センター	教授		
		博士 (医学)	日比	正彦
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	薬学博士	黒岩 厚
委 員	基礎生物学研究所	准教授	理学博士	成瀬 清
委 員	名古屋生物機能開発利用研究センター	准教授		
		博士 (医学)	清水	貴史

論文審査の結果の要旨

個体発生においては、全能性を持つ幹細胞は段階的な運命制限を受けながら多能性を失い、最終的な細胞種へと分化する。神経堤細胞は幅広い細胞種を産生する幹細胞であり、その派生物の多様さから運命決定の研究に適した材料である。神経堤細胞から産生される派生物の一つである色素細胞は、表現形質の観察が容易であることから特に優れたモデルだと考えられる。魚類は、哺乳類とは異なり複数の色素細胞サブタイプを持ち、そのすべては共通の幹細胞である神経堤細胞から産生されると考えられている。しかし、その過程に働く因子に関してはまだ不明な点が多い。本論文は、体色異常を示すメダカ変異体を用いて、色素細胞の運命決定過程の一端を解明した。

メダカには四つの色素細胞（黒色素胞、虹色素胞、黄色素胞、白色素胞）が存在する。メダカ *ml-3* 変異体は胚発生において、白色素胞の異所的な過形成を示す一方、黄色素胞は形成しない。*ml-3* 変異体では、野生型の黄色素胞前駆細胞で見られる遺伝子の発現が完全に消失することから、黄色素胞系譜そのものが形成されていないことを明らかとした。野生型と *ml-3* 変異体とは、他の色素細胞の発生に異常は認められなかった。以上の結果から、*ml-3* 遺伝子座は、白色素胞と黄色素胞の発生に特異的に関わっており、これらの色素細胞の運命選択に必須であると考えられた。

ml-3 遺伝子座のポジショナルクローニングの解析により、*ml-3* 遺伝子座領域に転写因子をコードする *sox5* 遺伝子が存在していること、*ml-3* 変異体では *sox5* 遺伝子のスプラインシング異常が起きていることが示されてきたが、*ml-3* 変異体において実際に *sox5* 遺伝子の変異を見つけられていなかった。本論文では、アンチセンスオリゴによる *sox5* 機能阻害胚および TILLING 法により単離した新規 *sox5* 変異体が *ml-3* 変異体と同様の表現型を示すことから、*sox5* がメダカ *ml-3* 変異体の責任遺伝子であると同定した。さらに、*sox5* は神経堤細胞および神経堤細胞に由来する黄色素胞前駆細胞で発現していることを見出した。また、細胞移植実験により作製された野生型と *ml-3* 変異体のキメラ個体では、形成される黄色素胞はすべて野生型細胞由来であることから、*sox5* が細胞自律的に黄色素胞系譜の運命決定を司ることを明らかにした。

pax7a はメダカ黄色素胞と白色素胞の発生に必須な遺伝子である。実際に *pax7a* は黄色素胞と白色素胞の両方で発現していることが確かめられた。野生型、*ml-3* 変異体、*pax7a* 機能欠損変異体において、*pax7a* の発現パターンを比較することにより *pax7a* が黄色素胞と白色素胞に共通の前駆細胞で発現していること、そしてその前駆細胞の発生に必須であることを明らかにした。一方、*ml-3* 変異体ではその *pax7a* 発現共通前駆細胞は正常に形成されていることを明らかにした。

以上の結果より、神経堤細胞から黄色素胞と白色素胞の段階的な運命決定機構とそこで働く遺伝子カスケードのモデルが立てられた。*sox5* は、*pax7a* が発現する黄色素胞・白色素胞共通前駆細胞から黄色素胞系譜の細胞運命を決定する分子スイッチとして機能することが明らかとなった。本研究は、幹細胞から多段階を経て最終的に細胞運命を決定する分子機構の理解に大きく貢献した。よって、申請者は博士（理学）の学位を授与される資格があると認められる。

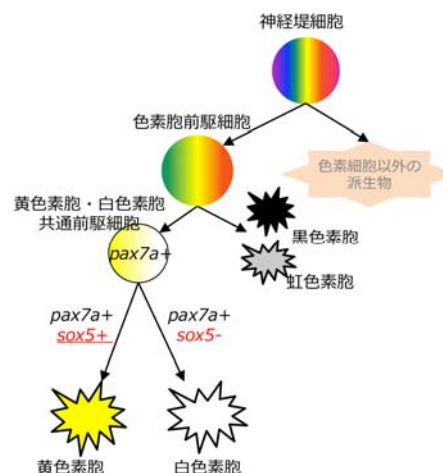


図. メダカ色素細胞発生経路