

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 松原 由幸

論 文 題 目

ウズラの HMM 変異体において多指症が発症するメカニズムの発生学的解析

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 博士(医学) 木下 専
委 員 名古屋大学生物機能開発利用研究センター
教 授 博士(医学) 日比 正彦

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

四肢形成の分子機構を研究する上で、四肢形態に異常を来す自然突然変異系統は、重要な役割を果たしてきた。遺伝的多指症を発症するニワトリ *talpid* 変異体では、四肢の前駆体である肢芽の成長と前後軸極性付与に主要な役割を果たす Sonic hedgehog(SHH)シグナル伝達経路の構成因子に異常が生じている。これらの原因遺伝子は、既知であった SHH シグナル伝達経路構成因子とは全く別の、一次繊毛形成に関わる因子であることが判明し、SHH シグナル伝達経路に一次繊毛が関与するという全く新規な像の提供に至っている。ウズラ Hereditary Multiple Malformation(HMM)変異は常染色体劣性変異であり、ホモ接合体(*hmm*^{-/-})では典型的な *talpid* 型の多指症を発症するが、四肢の表現型以外ではニワトリの *talpid* 変異とは異なる点が多い。このため申請者は、*hmm*^{-/-}における四肢及び肢芽の形態や遺伝子発現変化の詳細な解析により、SHH シグナル伝達経路の新規な機構が明らかになると考え、研究を展開した。

はじめに *hmm*^{-/-}の四肢の骨格の形態を詳細に観察したところ、指の形態学的な個性が欠損しており、発生中の肢芽における前後軸極性が失われていることが示唆された。そこで次に、指骨が形成されるより前の発生段階において、*hmm*^{-/-}の肢芽の中で前後軸方向に極性を持って発現する遺伝子 (*Hand2*, *Gli3*, *Alx4*, *Lhx9*, *Hoxd13*) の発現パターンを調べた。その結果、それらの発現パターンの異常が見られ、*hmm*^{-/-}の肢芽内の前後軸極性は、肢芽形成直後は部分的に維持されているが、自脚形成の発生段階では失われていることが明らかになった。

次に SHH シグナル伝達系を構成する遺伝子群の解析を行ったところ、*hmm*^{-/-}の肢芽においては *Shh* 遺伝子発現があり SHH タンパク質が存在しているにも関わらず、SHH シグナルの下流の遺伝子群 (*Gli1*, *Ptch1*, *Ptch2*, *Bmp2*) の発現は顕著に弱まっていることが判明した。また、野生型及び *hmm*^{-/-}肢芽を用いた ZPA の移植実験から、非常に興味深いことに *hmm*^{-/-}の肢芽間充織細胞では SHH タンパク質の分泌異常と SHH の下流のシグナル伝達経路の異常が同時に起きていることが示唆された。ニワトリ *talpid* 変異では、SHH シグナル伝達に必須な一次繊毛が形成されないが、*hmm*^{-/-}では一次繊毛の存在が確認された。このことから HMM ではニワトリ *talpid* 変異とは異なる機構で SHH のシグナル伝達が動作しないことが示された。

転写因子 GLI3 は、通常 SHH が存在する肢芽後部において、SHH シグナル入力によって産生される転写活性化型の GLI3A タンパク質として下流遺伝子の転写を活性化する。しかし *hmm*^{-/-}肢芽では、転写活性化型の GLI3A が肢芽全体でしかも過剰に存在していることが分かった。*hmm*^{-/-}でも GLI3A タンパク質のアミノ酸配列自体は正常であることから、*hmm*^{-/-}では SHH の分泌異常に加えて GLI3A の機能調節に異常が起きていることが明らかとなった。また *hmm*^{-/-}では、前肢芽が約 2 体節分前方に拡張するという表現型が確認され、SHH シグナル伝達経路が肢芽の位置指定にも関与するという新規性の高い可能性が示唆された。このように申請者は、HMM 変異体を利用して四肢形成における SHH シグナル伝達系に関するいくつかの新たな知見を提供し、これらは発生過程の様々な現場で重要な役割を果たす SHH シグナル伝達経路の基本的な機構と四肢形成機構の解明に大きく貢献するものと期待される。

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。