

氏 名 前澤 孝信

学位（専攻分野） 博士（理学）

学 位 記 番 号 総研大 1295 号

学位授与の日付 平成 2 1 年 9 月 3 0 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 ショウジョウバエ始原生殖細胞における
アポトーシス制御機構の解明

論文審査委員 主 査 教授 井口 泰泉
准教授 木下 典行
講師 向 正則（甲南大学）
教授 小林 悟

多細胞生物の体を構成する細胞は、体細胞と生殖細胞に大別できる。体細胞は、発生段階で様々な組織に分化し、個体の死とともにその役割を終える。一方、生殖細胞は有性生殖の過程を経て次世代へ受け継がれ、生命の連続性を担う。このような特殊な機能を担う生殖細胞の発生を制御する機構を明らかにすることは、発生生物学の中心課題の一つである。

多くの動物において、生殖細胞形成に必要な母性因子が生殖質と呼ばれる卵細胞質に局在することが知られている。ショウジョウバエの生殖質（極細胞質）は卵の後極に局在し、始原生殖細胞（極細胞）へ受け継がれる。この極細胞質に局在する母性因子の1つとして、*nanos* (*nos*) mRNA が知られている。母性 *nos* mRNA にコードされる Nos タンパク質の機能が失われると極細胞のアポトーシスが引き起こされる。さらに、Nos タンパク質は、マウスや線虫においても保存され、これらの動物種でも生殖細胞系列のアポトーシスを抑制する機能を持つ。したがって、この生殖細胞系列におけるアポトーシスの抑制が、Nos タンパク質の保存された機能であると考えられる。

これまでの研究から、Nos タンパク質は、極細胞中において *head involution defective* (*hid*) mRNA の翻訳を阻害することによってアポトーシスを抑制することが明らかとなっている。*hid* は、アポトーシス誘導に関わるカスパーゼ活性を抑制する inhibitor of apoptosis (IAP) タンパク質に結合し不活性化する IAP 結合タンパク質をコードする。*hid* の機能欠損型突然変異により Nos タンパク質を欠く極細胞 (*nos* 極細胞) のアポトーシスがほぼ完全に抑制されるので、*hid* は *nos* 極細胞におけるアポトーシス誘導において主要な役割を担っていると考えられる。正常胚発生過程において、*hid* mRNA は、生殖巣へと移動中の極細胞中で転写される。このことは、潜在的にアポトーシスをおこなう能力が極細胞に備わっていることを示唆している。本研究では、極細胞のアポトーシスの役割を明らかにするために、極細胞中において *hid* 発現に関わる遺伝子の探索をおこない、以下の諸点を明らかにした。

- 1) 極細胞中の *hid* の発現に、tumor necrosis factor ligand (TNF) スーパーファミリーリガンドホモログをコードする *eiger* (*egr*) 遺伝子が必要であることを見いだした。*egr* は胚発生ステージ 9 のみで極細胞中で発現し、この発現には *decapetaplegic* (*dpp*) 遺伝子が関与することも明らかにした。*dpp* は極細胞に隣接した体細胞で発現し、極細胞中で Dpp シグナル経路を活性化する。さらに、極細胞中における *hid* の発現に *dpp* も関与することが明らかになった。以上の知見は、体細胞からの Dpp シグナルにより、極細胞中で *egr* が活性化し、その働きにより *hid* の発現が引き起こされることを示唆している。
- 2) X 線照射等のストレスにより誘導されるアポトーシスに関わる *p53* 遺伝子、および check point kinase 2 (Chk2) ホモログをコードする *loki* (*lok*) 遺伝子が、極細胞中における *hid* の発現に必要であることを明らかにした。X 線を照射した胚において誘導される *hid* の発現には、*lok* 依存的な *p53* のリン酸化が関与することが示唆されており、極細胞中においても *lok* 依存的な *p53* のリン酸化が *hid* 発現に必要と予想できる。*p53* は胚全体で発現が観察されるのに対して、母性 *lok* mRNA とそのタンパク質は極細胞に偏在することから、母性 Lok により *p53* がリン酸化され、極細胞中での *hid* 発現に関与すると考

えられる。

- 3) 胚発生ステージ 11 の胚において、*hid* の発現とアポトーシスが頭部や顎の体節部等の体細胞で検出される。*p53* は胚期の体細胞全体で弱い発現が観察されることから、この *hid* の発現にも *p53* が関わるか否かを調べた。その結果、*p53* 突然変異胚においても、体細胞における *hid* の発現に変化は見られなかった。この結果は、正常胚発生過程において体細胞でみられる *hid* の発現が、*p53* 非依存的であることを示している。さらに、*egr* 突然変異も体細胞における *hid* の発現に影響を与えることはなかった。以上の知見を総合すると、*hid* の発現は、極細胞特異的に *p53* と *egr* によって制御されていることを示している。
- 4) *egr*、*p53* および *lok* は極細胞中の *hid* の発現に必要であるが、それぞれの突然変異単独では、*nos* 極細胞のアポトーシスを阻害することはできなかった。これは、各突然変異胚の極細胞中において、*hid* がわずかながら発現しているためと考えられる。また、*egr* と共に *p53* の機能を欠く場合でも同様に、極細胞における *hid* の発現が残存していることから、*egr* と共に *p53* の機能を欠く *nos* 極細胞でもアポトーシスを抑制できないと予想できる。実際には *egr*、*p53*、*nos* の 3 重突然変異を作製することができなかったため、この点に関して結論は出せないが、以上の結果は、*p53* と *egr* が関わる経路以外にも *hid* の発現を活性化する経路が存在する可能性を示唆している。

以上のように、アポトーシス誘導に中心的役割を果たす *hid* の発現は、極細胞質に偏在する母性因子の働きとともに、体細胞からの誘導により制御されていることが明らかとなった。Nos タンパク質は、*hid* mRNA の翻訳阻害によりアポトーシスを抑制するという機能以外にも、極細胞が体細胞に分化するのを抑制するという重要な機能を持つ。本研究で明らかにした *hid* の発現機構は、Nos タンパク質が減少した場合に生じる「異常な」極細胞をすみやかに排除するための「品質管理機構」の一端を担っていると解釈できる。生殖細胞系列の細胞死は多くの動物で観察されるにもかかわらず、その制御機構は未だに解明されていない。Nos タンパク質は多くの動物で生殖細胞系列の細胞死を制御しており、本研究で明らかにした知見は、ショウジョウバエのみならず、他の動物における細胞死の制御機構、さらにその役割を解明する上で基礎になると考えている。

多くの動物において、生殖細胞形成に必要な母性因子が生殖質と呼ばれる卵細胞質に局在することが知られている。ショウジョウバエの生殖質（極細胞質）は卵の後極に局在し、始原生殖細胞（極細胞）へ受け継がれる。この極細胞質に局在する母性因子の1つとして、*nanos (nos)* mRNA が知られている。母性 *nos* mRNA にコードされる Nos タンパク質の機能が失われると極細胞のアポトーシスが引き起こされる。これまでの研究から、Nos タンパク質は、極細胞中において *head involution defective (hid)* mRNA の翻訳を阻害することによってアポトーシスを抑制することが明らかとなっている。本研究では、極細胞のアポトーシスの役割を明らかにするために、極細胞中において *hid* 発現に関わる遺伝子の探索をおこない、以下の諸点を明らかにした。

1) 極細胞中の *hid* の発現に、tumor necrosis factor ligand (TNF) スーパーファミリーリガンドホモログをコードする *eiger(egr)* 遺伝子が必要であることを見いだした。*egr* は極細胞中で発現し、この発現には *decapetaplegic (dpp)* 遺伝子が関与する。*dpp* は極細胞に隣接した体細胞で発現し、極細胞中で Dpp シグナル経路を活性化する。以上の知見は、体細胞からの Dpp シグナルにより、極細胞中で *egr* が活性化し、その働きにより *hid* の発現が引き起こされることを示唆している。

2) X 線照射により誘導されるアポトーシスに関わる *p53* 遺伝子、および check point kinase 2 (Chk2) ホモログをコードする *loki (lok)* 遺伝子が、極細胞中における *hid* の発現に必要であることを明らかにした。母性 *lok* mRNA とそのタンパク質は極細胞に偏在することから、母性 Lok により *p53* がリン酸化され、極細胞中での *hid* 発現に関与すると考えられる。

3) 胚発生過程において、*hid* の発現とアポトーシスが頭部や顎の体節部等の体細胞で検出される。この *hid* の発現には *p53* および *egr* は関与しないことが明らかとなった。以上の知見を総合すると、*hid* の発現は、極細胞特異的に *p53* と *egr* によって制御されていることを示している。

以上のように、アポトーシス誘導に中心的役割を果たす *hid* の発現は、極細胞質に偏在する母性因子の働きとともに、体細胞からの誘導により制御されていることが明らかとなった。Nos タンパク質は、極細胞が体細胞に分化するのを抑制するという重要な機能も合わせ持つ。本研究で明らかにした *hid* の発現機構は、Nos タンパク質が減少した場合に生じる「異常な」極細胞をすみやかに排除するための「品質管理機構」の一端を担っていると解釈できる。生殖細胞系列の細胞死は多くの動物で観察されるにもかかわらず、その制御機構は未だに解明されていない。Nos タンパク質は多くの動物で生殖細胞系列の細胞死を制御しており、本研究で明らかにした知見は、ショウジョウバエのみならず、他の動物における細胞死の制御機構さらにその役割を解明する上で基礎になると考えている。

本出願論文は、不明であった始原生殖細胞のアポトーシス制御機構を解明するための基盤を築いた点において高く評価できる。以上の成果は、博士論文に値するものと審査委員全員一致で判断された。