

氏 名 牧 野 茂

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第468号

学位授与の日付 平成12年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Developmental genetics of mouse mutant
mesenchymal dysplasia (mes)

論文審査委員 主 査 教 授 林 茂生
教 授 武田 洋幸
教 授 廣海 健
助 教 授 中福 雅人（東京大学）
助 教 授 平田 たつみ（国立遺伝学研究所）

論文内容の要旨

Sonic Hedgehog (Shh)は脊椎動物の様々な器官形成の局面で細胞分化、増殖、組織の極性形成をコントロールする重要な分泌性シグナル分子である。Shh の異所的発現が様々な形態異常を引き起こすことから Shh の発現と、シグナル伝達は厳密にコントロールされる必要があると考えられる。通常 Shh の細胞内でのシグナル伝達は膜タンパク Patched(Ptc)により抑制されており、Shh は Ptc に結合してこの抑制を解除することによりシグナル伝達を引き起こすと考えられている。このモデルは主にショウジョウバエにおける遺伝学的研究から導かれたものである。ところが脊椎動物の Ptc1 蛋白には無脊椎動物には見られない C-末端細胞内ドメインがあり、その機能について興味をもたれていた。

Ptc1 のマウス発生における機能についてはこれまでジーンターゲット法で作製された null 型変異(*ptc*)によって解析されてきた。しかし *ptc1*^{-/-}の個体は発生約 10 日の段階で致死になるため、*ptc1* の発生後期における機能、特に様々な器官形成における *ptc1* の機能を調べることは今まで不可能であった。牧野君は今回新たな *ptc1* 変異を同定し、上記の問題を追求した。

messenchymal dysplasia (*mes*) は第 13 番染色体上にマップされている劣性マウス突然変異で、軸前側多指症の他に、頭部や胸骨の形態異常、皮膚の過形成、体重の増加など、中胚葉由来の組織の異常を示す。牧野君はまず *mes* 原因遺伝子を探索するため、日本産野生マウス由来の MSM 系統を用いた連鎖解析を行った。その結果、*mes* は D13Mit318 と D13Mit187 の間 1.7 cM の領域にマップされ、*patched1* (*ptc1*) と緊密にリンクしている事を明らかになった。さらに *mes* ホモ個体で *ptc1* 遺伝子上に 32 bp の欠失が存在することと、*ptc1* ノックアウトマウス (*ptc1*^{-/-})とのアレリズムテストにより *mes* は *ptc1* の hypomorphic なアレルであることを証明した。また C-末端細胞内ドメインのほとんどは *mes* における *ptc1* の 32 bp の欠失により無関係な配列に入れ替わっていると推定された事からこのドメインが Shh シグナル伝達に必須であることが示唆された。

牧野君は次に *ptc1*^{-/*mes*} 個体をしらべる事により Ptc の器官形成期における機能を解析した。発生 17 日以降の肺では間葉細胞の過形成が観察された。また、*ptc1*^{-/*mes*} 個体は *ptc1*^{+/+} 個体と比較して約 1.4 倍体重が増加した、特に背側や食道、気管の周りの間葉細胞の過増殖が観察された。以上より、*ptc1* は様々な間葉細胞の増殖抑制に関与していることが示唆された。ところが *ptc1*^{-/*mes*} 個体において Shh の発現に異常は見られなかった。この結果の有力な解釈の一つは Ptc1 がリガンドである Shh に依存しない状態で間葉細胞の増殖抑制に関与しているとするものである。

ptc1^{-/*mes*} 個体は肢芽の前端部で非常に弱い Shh の発現と強い *Fgf4* の異所的発現を起こし軸前側多指症を示す。しかし Shh シグナル活性化の指標である *ptc1* の転写に変化は見られないことから、一般に考えられているような Shh シグナル伝達系は肢芽前端部で活性化されていないことが分かった。この結果はさらに慎重な検討を要するが、肢芽における Shh のシグナル伝達系が *Fgf4* 転写活性化と *ptc* 転写活性化の 2 つに分岐しており、後者の系は Ptc1^{mes} によっては抑制されない、という可能性を示すものとして注目に値する。

以上の様に本研究は Shh シグナル伝達という生物学的に極めて重要な問題に対してマウス遺伝学の特性を活用して新たな重要な知見を導き出した。この成果の発生生物学への貢献は極めて大きいものであると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究は高等動物の発生、癌化に重要な役割を持っている Shh によるシグナル伝達のメカニズムという重要な問題に対して、遺伝学の特性を活用して新たに重要な知見を導き出した。審査員は英語で書かれた本論文を読み、研究の目的、方法、結果、そして解釈が的確かつ平易にかかれていることを確認した。公開発表、及びその後に5名の審査員との間で行われた非公開審査において、牧野君と審査員とのあいだで質疑応答を行った。牧野君は、自らの研究の意義、限界、将来の展望、関連分野の知識などの様々な質問に対して極めて的確な応答を行った。この研究の位置づけ、結果の解釈を的確に行って、平易に表現する能力を示したことは特筆に値する。質疑応答、及び提出論文をもとに審査委員が審議した結果、牧野君は高い研究能力、考察能力、知識を備えている、と判断した。なお、英語能力に関しては学位論文が英語で書かれていることから、優れた能力を持っていると判断した。本研究の成果の発生生物学への貢献は極めて大きいもので、学位授与にふさわしいと審査員一同判断した。