

氏名	なかに谷 じん 中 谷 仁
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2317号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	Xenopus Xenf: an early endodermal nuclear factor that is regulated in a pathway distinct from Sox17 and Mix-related gene pathways (Sox17, Mixとは異なる遺伝子経路によって制御されるアフリカツメガエル内胚葉核因子 Xenf)
論文調査委員	(主査) 教授 西川伸一 教授 塩田浩平 教授 中西重忠

論文内容の要旨

脊椎動物の初期発生において、三胚葉、即ち外、中、内胚葉の形成が起こる。そのうち内胚葉は、消化管の上皮を形成するほか、その付属器官としての肝臓、膵臓の実質を形成する。また気管、肺上皮や、胸腺、甲状腺なども内胚葉から発生し、内胚葉が臓器形成に重要な役割を果たすことを表している。ところが、内胚葉形成の分子メカニズムは現在のところ多くは不明であり、唯一アフリカツメガエルにおいて、転写因子である Mixer や Sox17 が内胚葉マーカーの発現を誘導することが知られているのみであった。本研究では、アフリカツメガエルの系を用いて、内胚葉形成を制御する分子機序の解明のために、内胚葉に特異的に発現する新規遺伝子、Xenf (Xenopus endodermal nuclear factor) を解析した。この Xenf の内胚葉形成における役割について、以下の様な結果を得た。

1. Xenf は全長497アミノ酸残基で、一次構造からは既知の何れの分子とも有意な相同性を持たなかった。分子内の親水性、疎水性領域を調べるハイドロパシープロファイルの結果からは可溶性蛋白質であると推定された。
2. ノザンプロット法を用いて mRNA の発現する時期を検討したところ、Xenf は原腸形成の開始とともに強く発現し始め、その終了とともに発現量が低下した。
3. ホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法を用いて mRNA の発現部位について検討したところ、内胚葉予定領域全体に発現していた。
4. Xenf と GFP との融合蛋白質をアフリカツメガエルの卵に発現させ、細胞内の局在を検討したところ、Xenf は細胞核に局在した。また、分裂M期では、Xenf 蛋白質は染色体上に検出された。
5. カエルの未分化胚組織であるアニマルキャップを用いた mRNA 微量注入法により、既存の因子の Xenf に対する誘導活性を検討した。内胚葉に存在する母性遺伝子の Vg1 や VegT は Xenf を誘導するが、内胚葉特異的な胚性遺伝子の Mixer や Sox17 は誘導しなかった。また Xenf は、Mixer や Sox17 の何れも誘導しなかった。
6. 胚性遺伝子の発現が起こる前に、将来内胚葉になる植物極側の細胞を分離し培養する実験では、植物極側の細胞は、中胚葉の存在なしに自律的に Xenf を発現することが分かった。

以上の結果は、内胚葉分化を決定する母性遺伝子の下流シグナルには、従来知られていた Mixer や Sox17 を介する経路以外に、これらを介さない別の経路が存在し、後者によって Xenf は制御されていることを示す。Xenf の分子解析は、未だ不明の内胚葉の分化制御機構の解明に貢献すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

当研究ではアフリカツメガエルの系を用いて、その発生初期において形成される三胚葉の一つ、内胚葉に着目し、その場所に特異的に発現する新規遺伝子、Xenf (Xenopus endodermal nuclear factor) を単離し、その構造と機能について解析した。Xenf は既存の蛋白質の何れとも相同性を有さない新規の遺伝子であり、予定内胚葉において原腸形成期に一過的に

発現が見られる。また、Xenf と GFP を用いた融合蛋白質を用いた実験からは、核内因子であることが分かった。未分化組織であるアニマルキャップを用いた強制発現実験よると、内胚葉特異的な母性遺伝子の Vg1 や VegT は Xenf を誘導するが、胚性遺伝子の Mixer, Milk, Sox17 は誘導しなかった。また Xenf は、Mixer, Milk, Sox17 の何れも誘導しなかった。以上の結果は、内胚葉分化を決定する母性遺伝子の下流シグナルには、従来知られていた Mixer や Sox17 を介する経路以外に別の経路が存在することを示している。このような Xenf の解析は、未だ不明の内胚葉の分化制御機構の解明に貢献し、膵臓の内分泌細胞などの内胚葉細胞の発生学に寄与するところが多い。従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成13年1月18日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。