

氏名	にしもとさとこ 西本聡子
学位(専攻分野)	博士(生命科学)
学位記番号	生博第104号
学位授与の日付	平成19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	生命科学研究科統合生命科学専攻
学位論文題目	アフリカツメガエル初期胚における ERK5 経路の機能解析

論文調査委員 (主査) 教授 西田栄介 教授 根岸学 教授 上村匡

論文内容の要旨

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路は細胞増殖、分化、形態形成など様々な生命現象において重要な役割を果たしている細胞内シグナル伝達経路である。MAPK ファミリーの因子としては、extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2, c-Jun amino-terminal kinase (JNK), p38, ERK5 が同定されており、なかでも ERK5 は最も最近同定された因子であるためにその機能および制御機構について解明されていない点も多い。そこで、申請者はアフリカツメガエル胚を用い、ERK5 の機能解析を行った。以前に ERK5 のノックアウトマウスの研究から、ERK5 は心臓および血管の形成において重要な役割を果たすことが報告されている。申請者は、本研究において新たな ERK5 の機能として、神経分化を制御することを見出した。

まず、アフリカツメガエルの ERK5 および ERK5 の直接の活性化因子である MEK5 を同定し、ERK5 および MEK5 に対するアンチセンス・モルフォリノ・オリゴヌクレオチド (MO) を用いて内在性の ERK5 および MEK5 の翻訳を阻害したところ、頭部形成に異常がみられ、神経分化が阻害された。さらに、外科的に切り出した予定外胚葉領域 (アニマルキャップ) で MEK5-ERK5 経路を活性化させると神経分化が促進されることを見出した。また、他の神経分化制御因子との上下関係について検討した結果、MEK5-ERK5 経路は SoxD の下流かつ Xngnr1 の上流で機能していることを見出した。SoxD は転写因子であるため、MEK5-ERK5 経路を直接活性化するとは考えにくい。そのため、SoxD によって FGF あるいは IGF などの増殖因子が誘導され、その増殖因子により MEK5-ERK5 経路が活性化されるのではないかと考えた。そこで、SoxD を過剰発現させたアニマルキャップにおいて、FGF および IGF の発現量を解析したところ、FGF13 の顕著な誘導が見られた。次にアフリカツメガエルの FGF13 をクローニングし、FGF13 が神経分化の際に MEK5-ERK5 経路を制御している可能性について検討した。その結果、FGF13 のノックダウンにより、ERK5 をノックダウンした場合と同様に頭部形成に異常がみられ、神経分化が阻害されていることを見出した。さらに、SoxD や Xngnr1 との上下関係を調べたところ、FGF13 も SoxD の下流かつ Xngnr1 の上流で機能していることを見出した。

このように本研究において、申請者は FGF13 および MEK5-ERK5 経路がアフリカツメガエル初期胚において神経分化を制御することを見出した。

論文審査の結果の要旨

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路は進化上高度に保存された細胞内シグナル伝達経路であり、細胞増殖や分化など様々な生命現象を制御する。これまでに、ERK1/2 経路、JNK 経路、p38 経路、ERK5 経路の4つの経路が知られている。ERK5 はこの中で最も最近同定された MAPK である。ERK5 および MEK5 の胚発生における機能については、これまでにノックアウトマウスからの知見により、心臓および血管形成に重要であることが明らかにされている。申請者は胚発生における ERK5 経路の機能をさらに検討するため、アフリカツメガエル胚を用いて解析を行った結果、ERK5 経路

の新たな機能として神経分化を制御することを見出した。

本論文において申請者は、アンチセンス・モルフォリノ・オリゴヌクレオチドを用いて ERK5 および MEK5 の機能を阻害した結果、頭部組織の減少および眼の形成異常が見られることを見出した。さらに、マーカー遺伝子の発現を解析した結果、神経発生に異常がみられた。アフリカツメガエルの神経発生においては、まず、神経誘導がおこり、その後神経分化がおこることが知られている。そこで、神経発生のどの段階を ERK5 経路が制御しているのかを検討した結果、神経分化において ERK5 経路が重要な役割を果たしていることを見出した。さらに、これまでにアフリカツメガエルの神経発生を制御することが知られている他の因子との上下関係について検討し、ERK5 経路は SoxD の下流かつ Xngnr1 の上流で機能していることを見出した。SoxD は転写因子であるため、SoxD が ERK5 経路を直接制御しているとは考えにくく、SoxD によりなんらかの増殖因子が誘導され、その増殖因子により ERK5 経路が活性化されるのではないかと考え、そのような増殖因子の探索を行った。その結果、SoxD により誘導される因子として FGF13 を同定した。FGF13 の機能解析を行ったところ、ERK5 経路と同様に SoxD の下流かつ Xngnr1 の上流で神経分化を制御することを明らかにした。以上の結果より、アフリカツメガエルの神経発生においては、神経誘導後 SoxD の発現が誘導され、SoxD により発現が誘導された FGF13 が ERK5 経路を活性化することにより Xngnr1 が誘導されるという新しいモデルが本論文により提唱されている。これまでに神経分化を制御する因子としては転写因子が多く知られており、神経分化を制御するシグナル伝達経路を新たに見出したことは大変意義深い。

以上のように、本論文で述べられた成果は非常に重要であり、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認められる。さらに、平成19年1月25日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。