

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	荒木 徹朗
論文題目	アフリカツメガエル初期胚における新規膜貫通型タンパク質EIG121Lの同定とその表皮分化における役割		
(論文内容の要旨)			
<p>BMP (Bone Morphogenetic Protein)シグナル伝達経路はTGF-βファミリーシグナル伝達経路のひとつで、様々な動物種において初期発生や恒常性の維持、疾病等に関与していることが知られている。脊椎動物の初期発生において、BMP経路は表皮の分化に必要であることが知られているが、その活性化状態がどのように維持され、表皮への分化が誘導されるのか、その制御機構についてはよくわかっていない。本論文において申請者はアフリカツメガエル初期胚を用いた解析から、1回膜貫通型タンパク質EIG121L (Estrogen-Induced Gene 121-like)が新たなBMP経路制御因子であることを見出した。EIG121Lは動物界において進化的に高度に保存されている遺伝子で、長い細胞外ドメインと短い細胞内ドメインを持つ1回膜貫通型タンパク質をコードしているが、その機能はあらゆる生物種において解析されていなかった。申請者はEIG121Lのアフリカツメガエルオーソログ (xEIG121L)をクローニングし、アフリカツメガエル初期胚においてxEIG121Lが中期胞胚遷移以降に発現が開始し、原腸胚期から神経胚期にかけて外胚葉表皮予定域に特異的に発現していることを見出した。また、アンチセンス・モルフォリノオリゴヌクレオチドを用い、アフリカツメガエル初期胚においてxEIG121Lをノックダウンしたところ、原腸胚期から神経胚期にかけて極めて重篤な発生異常を呈した。また、xEIG121Lノックダウン胚では表皮の分化が抑制され、神経の分化が誘導されていた。これらのxEIG121Lノックダウン胚の表現型は外胚葉においてBMP経路を強制的に不活性化させた際の表現型にきわめて類似していた。さらに、外胚葉組織片においてはxEIG121LのノックダウンによってBMP経路下流の細胞内因子であるSmad1のリン酸化が抑制されていた。これらの結果から、xEIG121LがBMP経路を正に制御し、外胚葉における表皮分化を促進していることが強く示唆された。また、EIG121LがBMP経路を制御する分子メカニズムを示唆する結果として、xEIG121LがBMP受容体と相互作用すること、アフリカツメガエル胚においてBMP受容体と細胞膜上で共局在することを見出した。さらに、哺乳類培養細胞におけるEIG121Lの強制発現はSmad1のリン酸化レベルを増強する活性があることを明らかにした。以上の結果から、外胚葉表皮予定域において、EIG121LがBMP経路を正に制御し、表皮への分化を促進していることが明らかになった。本論文は、アフリカツメガエル初期胚の表皮分化において、BMP経路の活性化を促進する新たな制御機構の存在を示唆するものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文において申請者はアフリカツメガエル初期胚を用いた解析から、1回膜貫通型タンパク質EIG121L (Estrogen-Induced Gene 121-like)を新たに同定し、表皮の分化誘導にその活性化が必須であるBMP(Bone Morphogenetic Protein)経路の新規制御因子であることを見出した。BMPシグナル伝達経路はTGF- β ファミリーシグナル伝達経路に属し、様々な動物種において発生や疾病、恒常性の維持等に関与している。脊椎動物の初期発生においてこれまでBMP経路は背腹軸に沿った発生運命の制御に関わっており、特にその活性化が表皮の分化に必要であることが知られていたが、表皮予定領域において活性化状態がどのように維持され、表皮への分化が誘導されるのかは未解明の部分が多かった。また、EIG121Lは動物界において進化的に高度に保存されている遺伝子で、長い細胞外ドメインと短い細胞内ドメインを持つ1回膜貫通型タンパク質をコードしているが、その機能はあらゆる生物種において解析されていなかった。そこで申請者はEIG121Lのアフリカツメガエルオーソログ (xEIG121L)をクローニングし、アフリカツメガエル初期胚においてxEIG121Lが中期胞胚遷移以降に発現が開始し、原腸胚期から神経胚期にかけて外胚葉表皮予定域に特異的に発現していることを見出した。また、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、アフリカツメガエル初期胚においてxEIG121Lをノックダウンすることで、原腸胚期から神経胚期にかけて極めて重篤な発生異常を引き起こすことを明らかにした。また、xEIG121Lをノックダウンした胚では表皮の分化が抑制され、神経の分化が誘導されていた。このような表現型は外胚葉においてBMP経路を強制的に不活性化させた際の表現型にきわめて類似していた。さらに、外胚葉組織片におけるxEIG121Lのノックダウンが、BMP経路の下流で働く細胞内因子であるSmad1のリン酸化を抑制することを見出した。これらの結果から、xEIG121LがBMP経路の活性化を促進し、外胚葉における表皮分化を誘導していることが強く示唆された。また、申請者はEIG121LがBMP経路を制御する分子メカニズムとして、xEIG121LがBMP受容体と相互作用すること、アフリカツメガエル胚においてBMP受容体と細胞膜上で共局在することを見出した。さらに、哺乳類培養細胞とアフリカツメガエル胚におけるEIG121Lの強制発現実験から、EIG121LにSmad1のリン酸化レベルを増強する活性があることが示唆された。以上の結果から、申請者は本論文において、外胚葉表皮予定域の細胞膜上において、EIG121LがBMP経路の活性化を増強し、表皮への分化を促進していることを明らかにした。

以上のように、本論文がEIG121Lの生体内における機能をあらゆる生物種を通じて初めて明らかにしたものであるだけでなく、アフリカツメガエル初期胚の表皮分化において、BMP経路の活性化を促進する新たな制御機構の存在を示唆するものであることから、本論文を博士(生命科学)の学位論文として価値あるものであると認めた。また、平成23年1月24日、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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日