

【課程博士用】

学 位 審 査 報 告 書

(ふりがな) 氏 名	おかもと かずこ 岡本 和子
学位（専攻分野）	博 士 （ 理 学 ）
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 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	理学研究科 生物科学専攻
(学位論文題目) カイメン幹細胞システム理解のための特異的遺伝子 <i>Ef1MusashiA</i> に着目した分裂様式の解明及び遺伝子機能解析系（RNAi 法）確立への試み	
論 文 調 査 委 員	(主査) 船山典子 准教授 青山卓史 教授 阿形清和 教授

理 学 研 究 科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理 学)	氏名	岡本 和子			
論文題目	カイメン幹細胞システム理解のための特異的遺伝子 <i>EflMusashiA</i> に着目した分裂様式の解明及び遺伝子機能解析系 (RNAi 法) 確立への試み					
(論文内容の要旨)						
幹細胞の際立った特徴は分化細胞を生み出しながら、自己複製を行うという点である。この能力を支える分子機構は幹細胞研究において最も興味深いテーマのひとつと考えられているにも関わらず、幹細胞が分化細胞を生み出しながら、自己複製を行うという幹細胞システムが動物の進化の過程でどのように発達してきたのかという点は未だ疑問点が多いままである。 本研究は、現存する最も進化的に古い多細胞動物であるカイメンを用いて、進化的に最も起源的な幹細胞システムの細胞・分子基盤の理解を目指したものである。本研究において、カイメン幹細胞特異的に発現する分子 Musashi ホモログ、<i>EflMusashiA</i> (<i>EflMsia</i>) 遺伝子を初めて同定した。Musashi は進化的に保存性の高い RNA 結合タンパク質であり、他の生物での組織幹細胞、初期発生での多分化能を持つ細胞で発現している事が知られ、動物種・組織によりターゲットの mRNA, miRNA は異なるもの RNA との結合を介して、特定の遺伝子の発現を負に制御していることが明らかになりつつある分子である。カイメン体制幹細胞 (アーキオサイト) 特異的に発現する <i>EflMsia</i> mRNA 及び <i>EflMsia</i> タンパク質の発現の詳細な解析を行い、<i>EflMsia</i> mRNA/タンパク質ともに発現量が維持されたままである M 期幹細胞 (typeI M 期アーキオサイト) と <i>EflMsia</i> mRNA/タンパク質の発現量が typeI M 期アーキオサイトと比較して明らかに低い typeIIM 期アーキオサイトが存在することが明らかとなった。また分裂終期での <i>EflMsia</i> mRNA/タンパク質の細胞質中での偏りは検出されず、将来の娘細胞の大きさ、M 期の紡錘糸の偏りなどは検出されなかった。これらの結果により、i) カイメン幹細胞は <i>EflMsia</i> を特異的に発現すること ii) カイメン幹細胞は分裂を介し、分化細胞を生み出すこと iii) その分裂様式は自己複製、分化のどちらの場合も対称分裂であることが示唆された。本研究により、これまで全く未知であったカイメン幹細胞分裂様式に光明を投げ、基本的に等分裂により分化細胞を生み出しているのではないかと示唆したことは、カイメン幹細胞の維持及び分化機構を細胞レベル、分子レベルで解明するための基礎となる重要な知見である。また、本研究で、<i>EflMsia</i> が幹細胞状態のアーキオサイトに特異的に発現すること、即ち真の幹細胞状態のアーキオサイトを、<i>EflMsia</i> mRNA 発現細胞として規定、識別可能となったことは大きな成果である。 この様にアーキオサイト特異的に発現する <i>EflMsia</i> は、カイメンにおいても幹細胞の維持の分子基盤の重要な担い手であると予想できるが、その機能解析のための、カイメンにおいて国内外を通じて確立されていない RNAi 法の確立の現在進行形の試みについても報告した。						

(論文審査の結果の要旨)

現存する多細胞動物の中で最も進化的に古いカイメン、その中でも主である「普通カイメン綱」に属する淡水海綿は、芽球からの個体形成という「コラーゲンの殻の中に入っている数千個の体制幹細胞（アーキオサイト）が休止を解除、活性化して殻の外に遊走し出て来て、約1週間で殻の周りに個体を形成する」という無性生殖系を持つ。本研究はこの幹細胞システム解析に非常に適した実験系を用い、幹細胞特異的に発現する遺伝子の同定、その詳細な発現解析から幹細胞集団を維持しつつ分化細胞を生み出す細胞分裂の仕組みの研究である。

当研究室でのこれまでの研究で、これまで主に形態的観察で推察されていたカイメン幹細胞（アーキオサイト）を、*Ef1PiwiA/Ef1PiwiB* 発現細胞として同定出来る、即ちこの細胞は分裂能を持ち、少なくとも複数種類の分化細胞に直接分化出来ることが明らかになっていた。また、通常分化と共に発現が失われる *Ef1PiwiA/Ef1PiwiB* の発現が形態的、機能的に分化した襟細胞でも例外的に維持されていることを見出し、カイメンは始原生殖細胞がなく体制幹細胞アーキオサイトと襟細胞から配偶子が減数分裂により生み出される、芽球形成などという幹細胞が多数必要な特別の条件下では襟細胞が脱上皮化してアーキオサイトへ変化するという組織学的な知見と合わせ、「通常働いている幹細胞としてのアーキオサイト」と、「特別な状況下で幹細胞や配偶子を生み出すという全能性を発揮出来る襟細胞」の2つの細胞種による幹細胞システムのモデルを提唱している。

以上の研究の上に、申請者はアーキオサイト特異的に発現する遺伝子 *Ef1MsiA* を同定し、分裂期アーキオサイトにおける、その mRNA とタンパク質の詳細な解析から、幹細胞集団を維持しながら分化細胞を生み出す細胞レベルでの仕組みとして芽球からの個体形成においてアーキオサイトは等分裂を用いていること、*Ef1MsiA* mRNA、タンパク質の発現レベルが異なる2つのタイプの分裂期アーキオサイトが存在することから、これらがアーキオサイトの自己複製、及び分化細胞を生み出す分裂であると示唆する結果を得た。特に *Ef1MsiA* mRNA の発現は分化方向にコミットされたと考えられる細胞ですでに非常に低く、分化細胞を生み出す分裂の前に止まると示唆され、幹細胞状態のアーキオサイトを、*Ef1MsiA* mRNA 発現アーキオサイトとして規定することが出来るようになった。

以上の研究は、カイメン幹細胞の細胞集団維持機構および分子基盤に関する非常に重要な発見である。また、分子進化系統の根元に近い動物において、幹細胞集団を維持しながら分化細胞を生み出す分裂様式という重要な事象についての知見は全くない中で、初めてこの事象を明らかにした研究である。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成24年5月23日に論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果、合格と認めた。