

氏 名	にし だ あき こ 西 田 明 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2797 号
学位授与の日付	平 成 17 年 1 月 24 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	OC29 is Preferentially Expressed in the Presumptive Sensory Organ Region of the Otocyst (OC29 の単離と、耳胞の予定感覚器領域における発現に関する研究) (主 査)
論文調査委員	教 授 塩 田 浩 平 教 授 清 水 章 教 授 篠 原 隆 司

論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類の内耳は、三半規管（外側半規管，前半規管，後半規管）の稜と前庭（卵形嚢と球形嚢）の平衡斑，蝸牛のコルチ器の計6つの感覚器から成る非常に複雑な構造をしているが，その原器は耳胞と呼ばれる嚢状構造である。単純な球面である耳胞が，いくつもの部分から構成される複雑な形態に分化していく過程について，コンパートメントバウンダリーモデルが提唱されている。このモデルは，耳胞を遺伝子の発現パターンによっていくつかのコンパートメントという領域にわけて考え，基本的にはコンパートメントごとに運命が決定されているとする説である。コンパートメントの境界付近は隣のコンパートメントとの間でシグナルのやりとりがあり，感覚器形成や内リンパ管形成などあらたな形態形成の場になると考えられている。このモデルは，耳胞での発現が知られている遺伝子は耳胞の一部にのみ発現していることが多く，それらのノックアウトマウスの多くが内耳のある部分にしか表現形をもたないことから支持されている。しかし，まだ各コンパートメントを特徴付ける遺伝子や予定感覚器領域をマークする遺伝子の情報は不足している。予定感覚器領域をマークする遺伝子の候補としてBMP4（三半規管の稜）とLunatic Fringe（コルチ器）が知られているが，それらの遺伝子の機能については分かっていない。さらに，耳胞のパターニングには，神経管や周囲の間葉組織など周囲組織からの影響も必要であると考えられている。

このように内耳発生に関わる分子機構はいまだ未解明な部分が多いので，その発生メカニズムを明らかにする1つのアプローチとして内耳の初期発生に関わる新規遺伝子の同定を試みた。ラット耳胞のcDNAライブラリーを作成し，シグナルシーケンストラップ法（SST法）を用いて発現遺伝子をスクリーニングした。SST法はシグナルシーケンスをもつ分泌蛋白や膜蛋白を効率よく単離するcDNAクローニング法である。スクリーニングした遺伝子の中でOC29は最も耳胞に特異的に発現していたのでOC29の解析をすすめた。培養細胞を用いた実験からOC29は分泌蛋白であることが示された。ノザンプロット法，real-time quantitative RT-PCR，*in situ* hybridization法によりラットでの発現解析をおこなったところ，OC29の発現は主に神経管と耳胞に局限していた。胎生11.5日の耳胞において，蝸牛の形成に重要とされるパターニング遺伝子Pax2および前庭の形成に重要とされるパターニング遺伝子Hmx3の発現と比較すると，OC29はHmx3と同じ耳胞の背外側の領域で発現がみられ，前庭の形成に関わることが示唆された。次に胎生12.5日に予定感覚器マーカーBMP4およびLunatic Fringeと発現を比較すると，OC29は主にBMP4陽性領域と重なって発現がみられ，前庭の中でも三半規管の形成に関わることが示唆された。胎生13.5日以降内耳の各器官が形態的に明らかになってくる時期にはOC29の発現はみられず，OC29の発現は一過性であることがわかった。OC29の実際の役割についてはさらなる検討が必要であるが，本研究から，OC29は神経管，耳胞両方での発現を通して，内耳の初期発生，特に三半規管形成の初期段階に短期分泌因子として何らかの役割をもつことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

哺乳類の内耳は、三半規管、前庭、蝸牛から成る非常に複雑な構造の感覚器であるが、その原器は耳胞と呼ばれる嚢状構造である。内耳発生の分子メカニズムは未だ未解明な点が多い。

そこで本研究では、内耳の初期発生に関わる新規遺伝子の同定をめざしてシグナルシーケンストラップ法によりラット耳胞に発現する遺伝子をスクリーニングし、主に耳胞と神経管に特異的に発現する分泌因子 OC29 を単離した。

OC29 は胎生11.5日の耳胞において、前庭の形成に重要とされるパターンニング遺伝子 *Hmx3* と同じ背外側の領域で発現がみられ、前庭の形成に関わることが示唆された。次に胎生12.5日の内耳で予定感覚器マーカー *BMP4*（三半規管膨大部稜）と *Lunatic Fringe*（蝸牛コルチ器と前庭平衡斑）と発現を比較すると、OC29 は主に *BMP4* 陽性領域に重なって発現がみられ、三半規管膨大部稜の形成に関わることが示唆された。胎生13.5日以降では発現はみられず、OC29 の発現は一過性であった。本研究から、OC29 は神経管、耳胞両方での発現を通して、内耳の初期発生、特に三半規管膨大部稜形成の初期段階に短期分泌因子として何らかの役割をもつことが示唆された。

以上の研究は耳胞のパターンニングや三半規管膨大部稜形成の分子メカニズムの解明に貢献し内耳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16年11月26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。