

氏 名	さい つかひろとも 才 津 浩 智
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2811 号
学位授与の日付	平成 17 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	Expression of the Mouse <i>Fgf15</i> Gene Is Directly Initiated by Sonic Hedgehog Signaling in the Diencephalon and Midbrain (マウス胎児間脳/中脳における <i>Fgf15</i> の発現は、ソニックヘッジホッグシグナルによって直接的に誘導される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 田 潤 教 授 河 野 憲 二 教 授 篠 原 隆 司

論 文 内 容 の 要 旨

Sonic hedgehog (Shh) は分泌性のシグナル因子であり、細胞増殖やパターン形成を制御していると考えられている。Shh シグナルを受けとった細胞内においては、転写因子 Gli (Gli1, Gli2, Gli3) によって標的遺伝子の転写が活性化されることが報告されているが、胚の発生過程におけるその標的遺伝子は殆ど分かっていない。以前我々は、マウス胚において、間脳および中脳での *Fgf15* 遺伝子の発現に *Shh* が必須であることを報告した。今回我々は、*Fgf15* 遺伝子の発現が Gli によって直接制御されているかどうか検討した。間脳/中脳における *Shh* と *Fgf15* の発現は共に 7 体節期までに始まり、*Shh* が神経ヒダ正中部、*Fgf15* はそれに隣接する部位（腹側）において観察された。同時期における *Gli1* と *Fgf15* の発現領域はよく一致しており、*Gli2* の発現はより広範囲であって、*Fgf15* の発現領域と重複していた。また、間脳/中脳での *Fgf15* の発現は、7 体節期の Shh ミュータントにおいて認められなかった。これらの所見は、*Shh* シグナルによる間脳/中脳での *Fgf15* の発現誘導が、Gli を介するものであることを示唆した。次に、間脳/中脳での *Fgf15* の発現を調節している DNA シス領域を同定するために、トランスジェニックマウス作成によるエンハンサー解析を行い、*Fgf15* 遺伝子の上流 3.6kb の領域に間脳/中脳でのエンハンサー活性を認めた。ルシフェラーゼレポーターを用いた解析においても、同領域は *Gli2* により活性化された。塩基配列を検索したところ、転写開始点より 1kb 上流に Gli の結合部位と推定される配列が認められた。ゲルシフトアッセイの結果から、*Gli1* および *Gli2* はこの配列に結合することが明らかとなった。この配列に変異を導入し Gli との結合を阻害すると、ルシフェラーゼアッセイにおいて *Gli2* による活性化が有意に抑制された。更にトランスジェニックマウスにおいて、腹側間脳/中脳での *Fgf15* の発現が消失した。これらの所見より、間脳/中脳において、*Fgf15* 遺伝子は Shh シグナルの直接の標的遺伝子であることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Sonic hedgehog (Shh) は分泌性のシグナル因子であり、細胞増殖やパターン形成を制御していると考えられている。Shh シグナルは、転写因子 Gli (Gli1, Gli2, Gli3) によって核へ伝えられることが報告されているが、胚の発生過程におけるその標的遺伝子は殆ど分かっていない。マウス胚において、間脳及び中脳での *Fgf15* 遺伝子の発現に *Shh* が必須であるとの報告をもとに、申請者は、*Fgf15* 遺伝子の発現が Gli によって直接制御されているかどうかを検討した。間脳/中脳での *Shh* と *Fgf15* の発現は共に 7 体節期までに始まり、*Shh* が神経ヒダ正中部、*Fgf15* は隣接する内側部で観察された。同時期における *Gli1* と *Fgf15* の発現領域は一致しており、*Gli2* はより広範囲で発現し、*Fgf15* の発現領域と重複していた。また、7 体節期の Shh ミュータントでは、間脳/中脳での *Fgf15* の発現は認められなかった。トランスジェニックマウスを用いたエンハンサー解析では、*Fgf15* 遺伝子の上流 3.6kb 領域に、間脳/中脳におけるエンハンサー活性が認められた。ルシフェラーゼレポーターを用いた解析でも、同領域は *Gli2* により活性化された。配列を検索すると、上流領域には Gli の結合部位が 1 つ認められ、この結合部位は、間脳/中脳での発現誘導および *Gli2* による活性化に必須であった。

これらの所見より、*Fgf15* は Shh シグナルにより、*Gli* を介して発現誘導されていることが明らかとなった。以上の研究は、神経前駆細胞の細胞増殖制御機構の解明に貢献し、中枢神経系の発生学に寄与するところが多い。

したがって、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12月27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。