

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	加藤 君子
論文題目	Prdmファミリー転写抑制因子Blimp1の網膜における発現と分子機能の解析		
(論文内容の要旨)			
網膜は光エネルギーを神経活動へと変換し、脳へと情報を伝達する器官であり、視覚に関わる最も重要な機能を司る。本学位論文では、光感受容体である視細胞に着目し、その発生機構の解析を行った。これまでの研究により、<i>Otx2</i> が視細胞への運命決定において必須の役割を果たすことが明らかとなっている。<i>Otx2</i> を網膜前駆細胞において欠損させると、視細胞が全く発生せず、代わりにアマクリン様細胞が増加する。また、運命決定した直後の視細胞において <i>Otx2</i> を欠損させても同様の表現型が認められることから、運命決定した直後の視細胞は運命転換可能であることが示唆される。さらに、<i>Otx2</i> は視細胞だけでなく双極細胞の分化をも制御することから、どのように視細胞と双極細胞の分化が制御されているのかについては不明な点が数多く存在する。そこで、本学位論文では、<i>Otx2</i> の下流分子を探索することで、視細胞前駆細胞の可塑性や視細胞分化を制御する分子を解明することを目的とした。 マイクロアレイ解析により野生型と <i>Otx2</i> 欠損網膜における遺伝子発現を比較した結果、<i>Otx2</i> 欠損網膜において著しく発現の低下する遺伝子の一つとして、<i>Blimp1</i> を見出した。<i>Blimp1</i> は B 細胞の終末分化や生殖細胞への運命決定においてマスター制御因子として機能する転写抑制因子である。そこで、網膜特異的 <i>Blimp1</i> 欠損マウスを作製し解析を行った結果、<i>Blimp1</i> を欠損すると、視細胞発生の初期から視細胞の数が減少することが明らかとなった。さらに、<i>Blimp1</i> 欠損網膜では、双極細胞様細胞および増殖性細胞が増加することを見出した。また、逆に <i>Blimp1</i> を過剰発現させると、双極細胞形成および細胞増殖が阻害された。<i>Blimp1</i> の作用機序を明らかにするため、野生型と <i>Blimp1</i> 欠損網膜における遺伝子発現をマイクロアレイ解析により比較した結果、<i>Blimp1</i> 欠損網膜では <i>Chx10</i> の発現が有意に増加することを見出した。<i>Chx10</i> は双極細胞への運命決定および網膜前駆細胞の増殖を制御する転写因子である。ルシフェラーゼアッセイおよび ChIP 解析の結果、<i>Blimp1</i> が網膜において<i>Chx10</i> の発現を抑制することが明らかとなった。 以上の結果から、視細胞分化の過程において、<i>Blimp1</i> は <i>Chx10</i> などの発現を抑制することにより、視細胞前駆細胞が双極細胞や細胞増殖に不適切に運命転換するのを抑制している可能性が示された。正常な視細胞の運命決定には、<i>Otx2</i> など正の制御因子による遺伝子活性化だけではなく、<i>Blimp1</i> のような転写抑制因子によって視細胞への分化を安定化することが必須であるものと考えられる。また、本研究は <i>Blimp1</i> が初期視細胞前駆細胞の可塑性や視細胞と双極細胞の運命決定を制御する鍵となる分子である可能性をも示しており、興味深い知見を見出すことができたものと考えられる。			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、視細胞の運命決定に必須の転写因子 *Otx2* の下流因子について解析したものである。*Otx2* を網膜前駆細胞において欠損させると、視細胞が消失し、代わりにアマクリン様細胞が増加する。また、運命決定した直後の視細胞において *Otx2* を欠損させても同様の表現型が認められる。このことから、運命決定した直後の視細胞は運命転換可能であり、積極的に細胞運命を固定化する機構が存在すると考えられる。しかしながら、詳細について未解明な点が多い。

申請者は、網膜視細胞分化における細胞運命の固定化メカニズムを明らかにする目的で *Otx2* の下流因子の探索を行った。野生型と *Otx2* 欠損網膜における遺伝子発現をマイクロアレイ解析により比較した結果、*Otx2* 欠損網膜において著しく発現の低下する遺伝子の一つとして *Blimp1* を見出した。*Prdm* ファミリーの転写抑制因子である *Blimp1* は、B 細胞の終末分化や生殖細胞への運命決定におけるマスター制御因子として機能することが従来より知られている。申請者は、*Blimp1* が視細胞前駆細胞に発現するという自らの知見に基づき、網膜特異的 *Blimp1* コンディショナルノックアウトマウスを作製し解析を行った。その結果、*Blimp1* 欠損により、視細胞前駆細胞から双極細胞様細胞および増殖性細胞へと細胞自律的に運命転換することを示した。*Blimp1* の作用メカニズムを明らかにするため、野生型と *Blimp1* 欠損網膜における遺伝子発現をマイクロアレイ解析および Q-PCR により比較した。その結果、双極細胞への運命決定および網膜前駆細胞の増殖を制御する転写因子 *Chx10* の発現が *Blimp1* の欠損により 2 倍以上変化することを明らかにした。さらにルシフェラーゼアッセイおよび ChIP 解析の結果、*Blimp1* が網膜において *Chx10* の発現を直接抑制することを示した。これらの結果から、*Blimp1* の網膜における機能の 1 つとして、*Chx10* の発現を抑制することにより視細胞前駆細胞の不適切な運命転換を抑制することが考えられる。

以上は、網膜視細胞の発生分化のプロセスにおける運命固定化分子メカニズムと生理的意義を示した研究として高く評価できる。したがって、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た。さらに平成 22 年 6 月 16 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