

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	鳥居 紘子
論文題目	Septin7 regulates inner ear formation at an early developmental stage (Septin7 は内耳初期発生を制御する)		
(論文内容の要旨)			
Septin はグアノシン三リン酸タンパクの一種であり、有核細胞生物において進化の過程で保存されてきたタンパクである。Septin は複合体を形成して機能することが知られており、その機能は細胞膜脂質、アクトミオシン、微小管との相互作用である。こうした相互作用により Septin は多くの哺乳類細胞の形態形成や生理作用において不可欠な機能を担っており、微小管安定性、小胞輸送、皮質剛性、平面細胞極性、アポトーシス等の機能に関与している。 内耳は高度に分化した有毛細胞により聴覚と平衡覚を司る、非常に複雑且つ対規模な構造の器官である。内耳の発生は形態的にも構造的にも複雑であり、アポトーシス、convergent extension、細胞運命決定といった非常に多彩な細胞間相互作用によって成立するものである。 こうした内耳発生における Septin の機能を解明するにあたり、Septin7 に着目した。Septin7 は Septin 複合体の中で他の Septin サブタイプと互換性を持たず、Septin 複合体の中で中心的な役割を果たしているサブタイプである。Septin7 は内耳上皮にて遅くとも E9.5 から発現しているが、Septin7 ノックアウトマウスは胎生早期致死であるため E18.5 まで生存する内耳特異的な Septin7 コンディショナルノックアウト(cKO)マウスを作成し、また発現時期が異なる複数の Cre にてそれぞれ cKO マウスを作成することで、マウス胎児初期発生の様々な時期における Septin7 の役割を解明した。いずれもコントロール n=5、cKO n=5 とし、paintfill にて内耳全体の形態評価、内耳凍結切片の免疫染色と細胞数カウントにて内耳上皮細胞の分化・アポトーシス・細胞増殖等の評価を行った。 Foxg1Cre を用いて E9.5以降の内耳における Septin7 をノックアウトしたところ、内耳には高度な嚢胞状奇形が生じた。また内耳上皮内には成熟した有毛細胞が認められたにも関わらず、感覚上皮細胞数は減少した。また E10.5,11.5,12.5 のいずれの時期においても cKO マウス内耳上皮内では著名なアポトーシス亢進が認められ、また E10.5,11.5 の時期には感覚上皮内においてアポトーシス亢進が認められた。しかし細胞増殖については、コントロールと比較して有意な差が認められなかった。 また胎生後期における Septin7 の機能を解明するため Emx2Cre を用いて E15.5以降の内耳における Septin7 をノックアウトしたが、形態面でも上皮の分化・発達面でも明らかな異常は認められなかった。 このことから、Septin7 は早期の内耳発生において形態形成上重要な役割を果たし、また感覚上皮領域形成を維持していると考えられる。そのメカニズムについては Septin7 が過剰なアポトーシスを抑制している機構が考えられるが、今回の実験結果においてはcKO内耳の形態的奇形による影響を受け二次的にアポトーシスが亢進した可能性も否定できない。一方 Septin7 は TypeII ミオシンとの相互作用により convergent extension を制御しているとの報告もあり、Septin7 が蝸			

牛管・内リンパ管において convergent extension による方向性を持った伸長を維持している可能性も考えられる。
（論文審査の結果の要旨）
内耳の発生は非常に多くの因子によって制御されている。各因子が適正な時期と位置に発現する事により、細胞レベルではアポトーシス、 convergent extension 、細胞運命決定等の相互作用が発生し、その結果形態形成、感覚上皮形成、神経分布形成が行われ、 tonotopy を備えた聴覚器官となる。 Septin は微小管安定性、小胞輸送、皮質剛性、平面細胞極性、アポトーシス等に関与している事が知られているグアノシン三リン酸タンパクであるが、内耳発生における役割はこれまで不明であった。
本研究では Septin の中でも中核的な役割を果たすサブタイプである Septin7 に着目し、 Septin7 が内耳の初期形態発生において必須であることを解明した。 Foxg1Cre を用いた E9.5 以降の Septin7 コンディショナルノックアウトマウスと Emx2Cre を用いた E13.5 以降の Septin7 コンディショナルノックアウトマウスにて paintfill による内耳形態評価と免疫染色による各種マーカー発現評価を行い、 Septin7 の作用機序はマウスにおいては E10.5 ～ E12.5 における過剰アポトーシス抑制であることを示した。一方 Septin7 は E15.5 以降の内耳形態発生に必須ではなく、また感覚上皮細胞の分化や神経分布形成において必須でないことも示した。以上の研究は内耳の形態発生、感覚上皮形成、神経分布形成において Septin7 が担う機能の解明に貢献し、内耳形態発生において Septin7 が必須であること、また Septin と相互作用を示す物質が内耳発生の機序に密接に関わっている可能性を示唆するものであり、内耳発生機構の解明ひいては内耳再生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30年5月14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。
要旨公開可能日： 年 月 日以降