

氏 名	まえ かわ もも こ 前 川 桃 子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 105 号
学位授与の日付	平 成 19 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	生 命 科 学 研 究 科 統 合 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	マウス着床前発生における MAP キナーゼの役割と遺伝子発現制御

論文調査委員	(主 査) 教 授 西 田 栄 介	教 授 眞 貝 洋 一	教 授 永 尾 雅 哉
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

着床前発生は哺乳類に特有のものであり、数日間という短い期間に *zygotic genome activation*, コンパクション, 胚盤胞形成, *pattern specification* など、様々な重要かつ興味深い現象がみられる。しかしながら、この発生過程を制御する遺伝子についてはよく分かっていなかった。そこで、申請者はこの着床前発生期間における MAP キナーゼシグナル伝達経路の働きに注目して研究を行った。p38 経路と JNK 経路を阻害すると胚盤胞形成に異常が見られること、そして、着床前発生の期間、p38 と JNK は活性化していることを明らかにした。次にマイクロアレイによるゲノムワイドな解析によって、アレイ上の約30,000個の遺伝子のうち、p38 経路と JNK 経路の阻害に感受性である遺伝子はたった156個であることが分かった。さらに、この156遺伝子のうち、10遺伝子の発現は p38 経路と JNK 経路の両方の阻害に感受性であることが明らかになった（2 遺伝子は正に制御されており、8 遺伝子は負に制御されていた）。この10遺伝子には軸形成やパターン形成に関与することが知られている遺伝子がいくつか含まれていた。10遺伝子のうちいくつかの遺伝子の発現を siRNA を用いて同時に抑制すると、胚盤胞形成に異常が見られた。これらの結果より、JNK 経路と p38 経路がマウスの胚盤胞形成に関与することが明らかになり、この発生過程に重要な働きをする遺伝子群を同定することができた。次に、コンパクションよりも早いステージでの細胞分裂を制御するメカニズムについて調べた。そして、細胞分裂と細胞接着が正しくおこなうためには ERKMAP キナーゼが必要であることを明らかにした。2細胞期後期の胚で ERK の活性化を阻害すると4細胞期の G2 期で細胞周期が停止し、また、ERK の活性化阻害剤を取り除くと再び細胞周期が進行し、発生が進むことが分かった。さらに、4 細胞期の G2 期で停止している胚では、コントロール胚に比べて割球間の接着が弱くなっていた。驚くべきことに、マイクロアレイ解析により、4 細胞期から8細胞期にかけてプログラムされた遺伝子発現変化のほとんどが、4 細胞期で停止している胚でも正常に進んでいることが分かった。残りの一部の遺伝子群については、G2 期で停止し、その後発生が再開したとき、胚の形態と一致して発現プロファイルも遅れていた。このような胚の形態と一致した発現をする遺伝子群には、細胞間の接着分子をコードしている遺伝子が含まれており、それらの発現は ERK 経路によって正に制御されていた。また、8 細胞期から ERK 経路を阻害しても細胞分裂停止は起こらないが、同時にカドヘリンによる細胞間接着を壊すと細胞分裂停止が引き起こされた。これらの結果から、2細胞期から8細胞期にかけての胚では、ERK 経路は細胞周期の G2 期から M 期への進行に必要であり、さらに接着分子の発現にも関与していることが明らかになった。また、コンパクションより前のステージでは、遺伝子発現プログラムと発生のステージ、つまり形態は必ずしも一致していないということが示唆された。

以上のように本研究では、マウスの着床前発生において、p38 経路と JNK 経路は胚盤胞形成に関与し、ERK 経路は細胞周期の進行と接着分子の発現に関与していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

哺乳類に特有の発生過程である着床前発生を制御する遺伝子については、未解明な部分が多かった。申請者はこの着床前発生期間における MAP キナーゼシグナル伝達経路の働きに注目して研究を行った。

本論文において申請者はまず、p38 経路と JNK 経路を阻害すると胚盤胞形成に異常が見られること、そして、着床前発生の期間、p38 と JNK は活性化していることを明らかにした。また、マイクロアレイによるゲノムワイドな解析によって、アレイ上の約30,000個の遺伝子のうち、p38 経路と JNK 経路の阻害に感受性である遺伝子はたった156個であること、さらにこの156遺伝子のうち、10遺伝子の発現は p38 経路と JNK 経路の両方の阻害に感受性であることが明らかした。この10遺伝子には軸形成やパターン形成に関与することが知られている遺伝子が含まれており、10遺伝子のうちいくつかの遺伝子の発現を siRNA を用いて同時に抑制すると胚盤胞形成に異常が見られた。これらの結果より、JNK 経路と p38 経路がマウスの胚盤胞形成に関与することが明らかになり、この発生過程に重要な働きをする遺伝子群を同定することができた。次に、コンパクションよりも早いステージでの細胞分裂を制御するメカニズムについて調べた。2細胞期後期の胚で ERK の活性化を阻害すると4細胞期の G2 期で細胞周期が停止し、また、ERK の活性化阻害剤を取り除くと再び細胞周期が進行し、発生が進むことが分かった。さらに、4細胞期の G2 期で停止している胚では、コントロール胚に比べて割球間の接着が弱くなっていた。驚くべきことに、マイクロアレイ解析により、4細胞期から8細胞期にかけてプログラムされた遺伝子発現変化のほとんどが、4細胞期で停止している胚でも正常に進んでいることが分かった。残りの一部の遺伝子群については、G2 期で停止し、その後発生が再開したとき、胚の形態と一致して発現プロファイルも遅れていた。このような胚の形態と一致した発現をする遺伝子群には、細胞間の接着分子をコードしている遺伝子が含まれており、それらの発現は ERK 経路によって正に制御されていた。また、8細胞期から ERK 経路を阻害しても細胞分裂停止は起こらないが、同時にカドヘリンによる細胞間接着を壊すと細胞分裂停止が引き起こされた。これらの結果から、2細胞期から8細胞期にかけての胚では、ERK 経路は細胞周期の G2 期から M 期への進行に必要であり、さらに接着分子の発現にも関与していることが明らかになった。また、コンパクションより前のステージでは、遺伝子発現プログラムと発生のステージ、つまり形態は必ずしも一致していないということが示唆された。

以上のように、本論文で述べられた成果は非常に重要であり、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して認めた。さらに、平成19年1月22日、論文内容とそれに関連した口答試問を行った結果合格と認めた。