

| | |
|----------|---|
| 氏 名・（本籍） | 能 ^の 登 ^と 舞 ^{まい} （秋田県） |
| 専攻分野の名称 | 博士（医学） |
| 学位記番号 | 医博甲第 848 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 25 年 9 月 25 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 | 医学系研究科医学専攻 |
| 学位論文題名 | Conserved expression of Sox13 orthologs in early vertebrate development . (脊椎動物の初期発生において Sox13 相同分子種の発現は保存されている) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 羽 淵 友 則 (副査) 教授 妹 尾 春 樹 教授 大 森 泰 文 |

学位論文内容要旨

論文題名(英文・和文)

CONSERVED EXPRESSION OF SOX13 ORTHOLOGS IN EARLY VERTEBRATE DEVELOPMENT

(脊椎動物の初期発生において Sox13 相同分子種の発現は保存されている)

申請者氏名 能登 舞

研究目的

脊椎動物の発生過程において、皮膚と神経組織は外胚葉に由来する。我々は、アフリカツメガエルの外胚葉を神経組織へと分化させる因子を発現スクリーニングの手法を用いて探索する過程で、転写因子である Sox13 を単離した。Sox (Sry-related high-mobility-group box) ファミリーは、様々な細胞の運命決定に関わる転写因子であり、Sox13 はこれまで $\delta \gamma$ T 細胞の分化に関わっていることが明らかにされている。しかし、その生物学的役割については、未だ十分に解明されていない。本研究では、アフリカツメガエルとマウスの初期発生過程における Sox13 の発現を比較し、さらに成体マウス臓器における Sox13 の発現を調べることにより、脊椎動物の発生における Sox13 の役割を調べた。

研究方法

アフリカツメガエルの胞胚期外胚葉の高い可塑性を利用して、神経誘導因子のスクリーニングを行った。その結果単離した Sox13 遺伝子の発生初期における発現を、カエル胚とマウスの胚を用いて、RT-PCR 法と *in situ* ハイブリダイゼーション法により検討した。また、Sox13-LacZ-ノックインマウスを作製し、成体マウス臓器における Sox13 の発現部位を、X-gal 染色を用いて観察した。

研究成績

(1) 神経化因子の機能的スクリーニング

アフリカツメガエルの前方神経板由来の約 40,000 の cDNA プールから、外胚葉の神経化に関わるクローンを複数個単離した。そのうちの一つクローン A133 は、哺乳類の転写因子 Sox13 の相同遺伝子である XSox13 をコードしていることが明らかになった。

(2) アフリカツメガエルにおける XSox13 の発現

XSox13 mRNA は、胞胚期では外胚葉全体に、原腸胚期では原口背唇部(オーガナイザー)に強く発現していた。神経胚期では、XSox13 の発現は神経板に局限していた。尾芽期に入ると、XSox13 は、中枢神経系のほかに、眼、耳胞、鰓弓、体節など様々な部位で発現していた。

(3) マウスにおける Sox13 の発現

Sox13 mRNA は、E7.5 ではオーガナイザーに相当するノードに発現していた。E8.5 では神経管に強く発現するようになり、体節形成期の間、Sox13 は神経系に発現し続けた。E11.5 になると、神経系や眼球のほか、体節で分節状の発現がみられた。

(4) 成体マウス臓器における Sox13 の発現

Sox13-LacZ-ノックインマウスを作製した。Sox13 ホモ変異マウスにおいて、神経系の発生に異常はなかった。成体マウスでは、発生初期にみられたような神経系における発現はなかった。肺の終末細気管支上皮細胞、胃壁の腺上皮細胞、子宮内膜腺の腺上皮において、Sox13 の発現が観察された。

結論

Sox13 は、アフリカツメガエル、マウス両方で、発生初期にオーガナイザー領域、および神経組織に発現していることがわかった。これは、Sox13 の体軸形成、神経形成における役割が、脊椎動物の進化の過程で種を超えて保存されていることを意味している。一方、Sox13 ホモ変異マウスにおいて、体軸形成や神経系の発生に異常はなかったことは、Sox13 の機能が他の転写因子によって補完されているためと考えられる。一方、成体マウスにおいては、Sox13 は終末細気管支上皮、胃粘膜上皮、子宮内膜腺上皮などに発現しており、分泌系上皮組織の機能に関わっていることが示唆された。

学位論文（博士一甲） 審査結果の要旨

主査： 羽瀧 友則

申請者：能登 舞

論文題名：

Conserved Expression of Sox13 Orthologs in Early Vertebrate Development

(脊椎動物の初期発生において Sox13 相同分子種の発現は保存されている)

要旨

脊椎動物の発生過程において、皮膚と神経組織は外胚葉に由来する。本研究では、アフリカツメガエルの外胚葉を用いて神経誘導因子のスクリーニングを行う過程で、転写因子であるSox13を単離した。本研究では、アフリカツメガエルとマウスの初期発生過程におけるSox13のホモログであるXSox13ならびにSox13の発現を比較した。アフリカツメガエルにおけるXSox13の発現は、肺胞期には外胚葉全体、原腸胚期は原口背唇部に強く、神経胚期には神経板に局限。尾芽期では中枢神経系に加えて、眼、耳胞、bronchial arch、体節などに発現。これらはマウスと発現様式は類似していた。さらに成体マウス臓器におけるSox13の発現を調べたところ、終末細気管支上皮、胃粘膜上皮、子宮内膜腺上皮など、分泌に関わる部分に発現がみられた。以上から、Sox13は、初期発生での発現が種を超えて保存され、分泌上皮機能に関わっていることが示唆された。

【1】斬新さ

アフリカツメガエル胚から、胞胚期外胚葉の高い可塑性を利用して、神経誘導因子の遺伝子スクリーニングを行い、Sox13遺伝子を同定した。神経発生の過程でSox13を単離したというデータはこれまでなく、Sox13の機能解明につながる。また複数の脊椎動物の初期発生過程における発現を比較することで、進化の過程において、機能が保存されたことを確認している点も新規性がある。さらに成体マウスにおけるSox13の発現部位や、その機能について未だ不明な点が

多いが、本研究で確認した成体マウス臓器での発現様式は、Sox13遺伝子の機能解明の手がかりになる。

以上が主な斬新な点と考えられる。

【2】重要性

近年Sox familyの機能に関して徐々に解明されつつあり、その重要性が明らかにされている。しかしながら、Sox13については未だ不明な点が多い。Sox familyは細胞運命決定に関わる転写因子群として注目されており、その機能探究は様々な臓器の発生過程の解明につながる。本研究で、Sox13が発生過程においては神経誘導因子であること、成体においては分泌系上皮組織に発現していることが確認された。今後、Sox13遺伝子の各臓器での発生段階や成体での機能を明らかにしていくことで、Sox13の欠損や異常による臨床的な意義が解明されると考えられる。この基礎研究は、疾患研究など臨床にも応用されうる可能性があり、基礎的ならびに臨床的にも重要である。

【3】実験方法の正確性

本研究では標準化された RT-PCR 法、in situ hybridization 法、Sox13-LacZ-ノックインマウス作成、ならびに X-gal 染色による観察など、既に確立された分子生物学的、分子遺伝学的解析法が用いられており、正確性や妥当性に問題点はない。

【4】表現の明瞭さ

抄録、背景、対象と方法、結果、考察、結論、図など簡潔で明瞭に記載または提示されている。さらに、すでに学術雑誌に英文論文として掲載受理されており、学位論文として校正、表現など問題ない。

以上のことより、本論文は学位を授与するに十分値する内容と判定された。