

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	鰭条形成におけるEctodysplasinシグナルの機能解析
Title(English)	
著者(和文)	飯田優希
Author(English)	Yuuki Iida
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9590号, 授与年月日:2014年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:工藤 明,川上 厚志,立花 和則,山口 雄輝,十川 久美子
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9590号, Conferred date:2014/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻:	生命情報	専攻	申請学位 (専攻分野):	博士 (理学)
Department of			Academic Degree Requested	Doctor of
学生氏名:	飯田 優希		指導教員 (主):	工藤 明 教授
Student's Name			Academic Advisor(main)	
			指導教員 (副):	川上 厚志 准教授
			Academic Advisor(sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「**鰭条形成における Ectodysplasin シグナルの機能解析**」と題し、以下の4つの章からなる。

第1章「序論」では、まず緒言として、骨研究の重要性とその歴史について述べている。続いて、脊椎動物の骨組織が内骨格と外骨格に分類されること、そしてその二種類の骨格の骨化様式が異なることを述べ、骨形成において骨芽細胞が重要な役割を担うこと、間葉系細胞から骨芽前駆細胞さらに未熟骨芽細胞へと分化する際に転写因子である **Runx2** と **Osterix** が必須であることを述べている。続いて、硬骨魚類の骨格特に鰭内部の骨格について述べ、本研究で特に着目した鰭内部の骨組織である鰭条について述べている。また、鰭条の形成に関して、ゼブラフィッシュの鰭再生研究やメダカの発生研究でこれまでに明らかにされている分子機構について述べている。続いて、本研究で解析したメダカ *afl* 変異体の原因遺伝子として同定された **Ectodysplasin A (Eda)** について、**Eda** 欠損によるヒト外胚葉異形成症、**Eda** 欠損マウス *Tabby*、ゼブラフィッシュ **Eda** 変異体、それぞれの表現型を説明し、**Eda** シグナル経路と **Eda** シグナルが関与する形態形成について述べている。さらに、メダカをモデル生物として用いることの意義を述べ、最後に、本研究がメダカを用いる利点を存分に活用して生体内での骨形成における新たな分子機構を提唱することを目的としたものであることを述べている。

第2章「材料と方法」では、実験動物であるメダカの飼育法、変異体の原因遺伝子の特定に必要なポジショナルクローニングとレスキュー実験、表現型解析に用いた骨染色、**Whole-mount RNA in situ hybridization**、切片作製法、細胞増殖測定法、免疫蛍光法、*in vivo* イメージングに用いた *edar-EGFP* トランスジェニックメダカと *osterix-DsRed* トランスジェニックメダカの作製法、イメージング方法について述べている。

第3章「結果」では、まず、本研究で用いた *afl* 変異体の表現型について述べている。*afl* 変異体の成魚は鰭条、頭蓋骨、歯、鱗の形成異常を示し、稚魚の鰭条発生に着目した解析から、*afl* 変異体では、鰭条形成開始のタイミングとその位置は正常であること、その後の伸長に異常が見られること、細胞増殖が低下していることを示している。続いて、原因遺伝子の特定のためにポジショナルクローニングを行い、*eda* 遺伝子にナンセンス変異を発見したこと、メダカ *eda* をクローニングしてその全長の配列を明らかにし、さらに *afl* 変異体に *eda* ゲノム DNA を導入して表現型を回復させることに成功したことを述べている。続いて、鰭条形成中における *eda* と *eda* に特異的に結合するレセプター *edar* の mRNA の発現を調べ、骨芽細胞マーカーである *bmp2b* と *runx2* の発現細胞と位置関係を比較して、**Eda** シグナルが間葉系細胞と上皮細胞間でシグナル伝達を行うことを示し、**Eda** シグナルの下流で **NF-κB** と *shh* が活性化していることを示唆するデータを示している。さらに、*edar-EGFP* と *osterix-DsRed* のダブルトランスジェニックメダカを作製し、*edar* の発現が *osterix* の発現に先行すること、*edar* の発現がその後形成される鰭条の形成開始位置を決定すること、*edar* 発現上皮細胞が遊走することで鰭条伸長方向が決まることを明らかにしている。

第4章「考察」では、まず、これまでに報告されているゼブラフィッシュ *eda*、*edar* 変異体とメダカ *edar* 変異体について述べ、*afl* 変異体との比較を考察している。また、*eda* と *edar* の発現は独立した機構により誘導されることを述べ、**Eda/Edar** シグナルとは別の *edar* が関与するシグナルが骨芽細胞分化を誘導する可能性があることを推測している。**Eda/Edar** シグナルは **Eda** シグナル活性化細胞の遊走と細胞増殖を制御しており、その下流が *shh* であることの妥当性について論じている。最後に結果と考察を踏まえて、**Eda** シグナルが関与する鰭条形成の新たな形成機構を仮説として提唱している。

以上を要約するに、本論文は、新規メダカ変異体 *afl* の単離と原因遺伝子 *eda* の同定を行い、Eda シグナルの鰭条・歯・鱗などの外骨格形成への関与を明らかにし、さらに、トランスジェニックラインを用いた *in vivo* イメージングにより、Eda シグナル活性化細胞の遊走が鰭条形成を誘導することを示している。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生命情報	専攻	申請学位 (専攻分野) : 博士 (理学)
学生氏名 : Student's Name	飯田 優希		指導教員 (主) : Academic Advisor(main) 工藤 明
			指導教員 (副) : Academic Advisor(sub) 川上 厚志

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Ectodysplasin (Eda) signaling is essential for the morphogenesis of several ectodermal appendages. Here, we report a medaka mutant, *all-fin less (afl)*, which has a nonsense mutation in its *eda* gene. The adult *afl* fish displayed various abnormalities of its dermal skeleton, such as short and twisted fin rays, missing and abnormally shaped scales and teeth, and skull deformation. Focusing on the developing fin rays in the caudal region of *afl* larvae, we found that the fin rays did not elongate; although the initial formation of fin rays proceeded normally. Additionally, *eda* expression was lost, and the expression pattern of *edar*, the gene for the receptor of Eda, was different from wild-type one. *In vivo* imaging of the double-transgenic medaka expressing EGFP under control of the *edar* promoter and DsRed under control of the *osterix* promoter revealed that *edar* expression preceded that of *osterix* and that the *edar*-expressing cells migrated in the direction of fin ray elongation, indicating that the Eda/Edar signaling event precedes osteoblast differentiation. Our findings provide evidence that Eda signaling accompanied with the binding of Eda to Edar are essential for fin ray formation guided by cell migration.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).