

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	飯田 優希	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	工藤 明	教授	十川 久美子	准教授
	審査員	川上 厚志	准教授		
		立花 和則	准教授		
		山口 雄輝	教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

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と述べられている。

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 *edar* 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- κ B 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た。鰭条形成における新たな分子機構の解明に寄与しており、その成果は理学上貢献するところが極めて大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。