

論文内容の要旨

申請者氏名 田中泰華

これまで、生殖細胞と幹細胞の違いを担う分子基盤を明らかにすることを目的とし、マウス始原生殖細胞 (primordial germ cells: PGCs) と inner cell mass (ICM) を含む blastocyst との間のサブトラクティブ cDNA スクリーニングが行われ、PGCs に特異的に発現するものとして2つの遺伝子が同定された (Tanaka and Matsui, Mech. Dev. 119S, S261-267, 2002)。これらは *Importin13 (Ipo13)* と *Low density lipoprotein receptor-related protein 4 (Lrp4)* であり、それぞれ生殖細胞特異的な細胞分化機構に関わると推測された。そこで本論文では、(1) IPO13 による減数分裂過程の制御、及び (2) *Lrp4* の生殖細胞発生過程での発現変化と PGCs の分化能の制御との関連、に注目して研究を進めた。

Ipo13 は細胞質核間の物質輸送を担う Importin- β ファミリーに属し、マウス生殖細胞では、雌雄ともに減数分裂過程のパキテン期に高発現していた。*in vitro* においては、*Ipo13* の強制発現が、ヒト IPO13 のカーゴ分子である ubiquitin binding complex 9(UBC9)の核への局在化を引き起こすこと、また培養マウス胎仔卵巣におけるジーンサイレンシングにより、UBC9 の核局在化が抑制され、卵母細胞のパキテン後期への分化を阻害されることなどから、*Ipo13* の時期特異的な高発現が減数分裂過程において重要な役割を果たす分子群の細胞内局在を変化させ、生殖細胞分化を制御していると考えられる。

また本研究において、*Ipo13* の物質輸送活性が、*Ipo13* の転写開始点の使い分けにより生じる2つの isoform の存在比によって制御されている可能性も示唆された。

Lrp4 の生殖系列細胞での発現を調べた結果、胎仔生殖巣に到達する時期の PGCs 特異的に高発現するが、ICM や原始外胚葉、また ES、EG 細胞といった多能性幹細胞には発現していないことが観察され、*Lrp4* の機能が PGCs の分化や EG 細胞の樹立と密接な関わりを持つことが推測される。近年 LRP4 は、LRP5/6 に依存した WNT-signaling の伝達を阻害することが報告されており、また WNT-signaling は ES 細胞の自己増殖に重要な役割を果たしていることも知られている。*Lrp4* 遺伝子を介した生殖細胞での WNT-signaling 伝達の調節機構について研究成果が得られる事により、PGCs の分化や増殖能の制御機構の解明につながることを期待される。

以上の研究から、マウス生殖細胞が、幹細胞とは異なり、その特性を獲得して分化していく過程、特に減数分裂過程での生殖細胞分化を制御する分子機構の一端が明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 田中泰華

申請者は、マウス生殖細胞発生分化過程に興味をもち、一貫して、その発生現象における細胞分化に重要な分子機構の解明に努めた。そして、生殖細胞特異的な現象である減数分裂の制御に関わる分子機構および、生殖細胞と多能性幹細胞との違いを担う分子基盤に着目し、研究を進めてきた。

減数分裂の制御機構の研究については、細胞質核間の物質輸送を担う *Importin-β*ファミリーの一つである *Importin13 (Ipo13)*が、減数分裂過程のパキテン期生殖細胞に時期特異的に高発現することを見だし、この知見を基にさまざまな分子操作を行い、*Ipo13*の時期特異的な高発現が、減数分裂過程において重要な役割を果たす分子群の細胞内局在を変化させ、生殖細胞分化を制御しているという新しい機構を提唱するに至った。さらには、マウス成体精巣において、*Ipo13*の物質輸送活性の制御が、転写開始点の使い分けにより生じる N 末端側を欠損した *truncate isoform* との存在比によって調節されているという、新しい分子機構モデルを提唱しており、*Importin*による物質輸送の制御メカニズムを解き明かすという観点においても非常に興味深い知見を得ている。

一方で、*Low density lipoprotein receptor-related protein 4 (Lrp4)*の生殖系列細胞での発現を調べた結果、胎仔生殖巣に到達する時期の PGCs に特異的に高発現するが、ICM や原始外胚葉、また ES、EG 細胞といった多能性幹細胞には発現していないことを観察した。その結果から、*Lrp4*の機能は、時期特異的な *Lrp4*遺伝子活性の上昇により周囲の細胞から与えられる WNT-signaling を遮断し、PGCs の自己増殖を抑制、分化へと誘導するというモデルを提唱している。今後、この *Lrp4*遺伝子を介した生殖細胞の WNT-signaling 伝達の調節機構モデルをベースとした研究により、PGCs の分化や増殖能の制御機構の解明につながることを期待される。このことから、本研究は、マウス生殖細胞の分化機構解明において先駆的な知見を示した研究成果であると位置づけられる。

以上のように、本論文は、マウス生殖細胞から配偶子へと分化する過程での、特に減数分裂過程における新規の分子機構を明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。