

ふと日常何気なく使っている手を見てみると、とてもおもしろい形をしていることに気付く。われわれヒトは手足に5本の指を有し、それぞれの指は前後軸上の位置に沿って特徴ある形態を示す。ニワトリでは個々の指の形態の違いがさらに明確であり、前肢3本、後肢4本の指は指骨の長さや数などでそれぞれを区別することが可能である。それではこのような指の個性の違いというものとはどのような分子メカニズムによって決まっているのであろうか。

Tbx3 はヒトで第4指および第5指の欠損が生じる **ulnar-mammary** 症候群の原因遺伝子であることが知られている。そこで申請者は、**Tbx3** 遺伝子が後側の指の形態形成に関わっているのではないかと考え、指の区別が明確であるニワトリ胚を用いて検討を行った。

St.27 において **cTbx3** は最も後側の指間部と後側から2番目の指間部で発現していた。また **Tbx3** と同様肢芽に発現する **cTbx2** は最も後側の指間部のみに発現していた。次に肢芽全体に **Tbx2/3** を強制発現させて指のパターン形成に与える影響を検討した。その結果 **Tbx2** を発現させると第3指を第4指に、**Tbx3** を発現させると第2指を第3指に形態変化させることに成功した。またドミナントネガティブ型である **VP16ΔTbx2/3** を強制発現させると、第4指および第4指と第3指が前側化した。この時の遺伝子の発現変化を見ると **Tbx2/3** は **BMP2**、**Shh**、**Hoxd12/13** の発現を正に、**Gli3**、**Gremlin** の発現を負に調節していることが分かった。また **Tbx2/3** は指間部への **Noggin beads** 移植によって誘導される指の前側化を抑制した。これらの結果から **Tbx2/3** は下流で **Shh** や指間部での **BMP** シグナルを制御することにより指のパターン形成における第4/3指の個性の決定に関与していることが考えられた。

次に、**Tbx2/Tbx3** の発現パターンを手がかりに、指の個性がいつ決まるのか検討した。指間部への **Noggin beads** 移植をさまざまなステージで行ったところ、**st.28** では指の前側化や **Tbx2/3** の発現の低下が見られたが、**st.30** では指のパターンや **Tbx2/3** の発現パターンの変化は観察されなかった。指の個性の変化と **Tbx2/3** の発現パターンに相関性があることから、ニワトリ後肢の指の個性は **st.28/29** 頃に決まり、その後固定されると考えられる。次に、指の個性が決定される時に指原基からのシグナルは必要あるのかを検討した。その結果、指原基の切除やアルミ箔の挿入、ウズラの指原基の指間部への移植を行っても **Tbx2/3** の発現パターンに変化はなかった。このことから、指の個性の決定は指間部から指への一方的なシグナルによって決まることが分かった。

このように本研究では **Tbx2/Tbx3** 遺伝子の機能を発生学的に解析することにより、後側の指の形が決定されるメカニズムが初めて明らかとなった。

申請者氏名 鈴木 孝幸

肢芽のパターン形成でほとんど明らかになっていないところは、肢芽の initiation と digit identity(指の個性)の決定メカニズムである。特に指の個性は形態学的にもそれぞれの指の形が大きく異なることから、個々の指の形を特徴付ける因子の存在が考えられていた。しかし発生学的には遺伝学的解析のできるゼブラフィッシュには指がなく、マウスでは遺伝子の発現を変化させた時の形態的な変化が見にくいことが、指の形態形成のメカニズムを解析していくことが遅れていた点であった。

本研究では、それぞれの指の区別が明確なニワトリ胚を用いて後側の指の個性の決定メカニズムを非常に巧妙に研究している。これまでそれぞれの指を染め分けるマーカー遺伝子は全く報告されていなかったが、指の形態と Tbx 遺伝子群の発現パターンに相関性があることが示され指のマーカー遺伝子として Tbx 遺伝子群が使用できることが明らかとなった。今後は Tbx 遺伝子群の発現パターンを手掛かりに様々な指の変異体モデル動物の指の個性が解析されることが予想されることからこの指のマーカー遺伝子を特定できたことは発生学的意義が極めて大きい。さらには Tbx2 と Tbx3 がそれぞれ第 4/3 指の指の個性を特徴付けることが示されたことは、分泌因子の濃度勾配が Tbx2/Tbx3 遺伝子によって領域分けされた結果であることも示しており、このような転写因子によってそれぞれの組織の特異性が生まれるという発生学的にも重要な概念を提唱している。また申請者は遺伝子の機能を解析するだけでなく、そこから ulnar-mammary 症候群の発生のメカニズムや脊椎動物の指の進化の課程を推察する新しいモデルも提唱しており、今後の医学、進化発生学に寄与する影響も大きい。

以上のように、本論文は指の個性の決定機構に関する発生学的かつ進化的な形態形成のメカニズムの解明の一助となるもので、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって審査員一同は、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。