

博士論文審査報告書

論文題目 : Perturbation of Notch/Suppressor of Hairless pathway disturbs migration of primordial germ cells in *Xenopus* embryo

「Notch signal の攪乱によりアフリカツメガエル胚の始原生殖細胞の移動は阻害される」

申請者 : 森近 恵祐

1. 論文内容の要旨

始原生殖細胞(Primordial germ cell: PGC)は、生殖細胞(配偶子)になる細胞であり、発生の初期過程から特殊化していることが知られている。アフリカツメガエル胚においては、卵割の過程で未授精卵の植物極表層に存在する生殖細胞質を引き継いだ細胞が PGC となる。原腸陥入中の PGC は周辺の内胚葉細胞とともに受動的に移動する。神経板期以降は内胚葉内を能動的に、背側へ移動していき、内胚葉の最背側から予定生殖巣領域が形成される腸管膜へと移動する。このように、アフリカツメガエル胚においては、PGC の移動経路の大部分を内胚葉領域が占める。Notch/Suppressor of Hairless [Su(H)] signaling は近接する細胞間で作用するシグナル伝達経路である。Notch レセプターとそのリガンドである Delta, Serrate はいずれも膜貫通タンパクであり、リガンドと Notch レセプターが結合することで Notch の細胞内ドメイン(NICD)が切断される。切断された NICD は、Su(H) と複合体を形成し、Hairly and Enhancer of split (HES) family を中心とした下流因子の転写を活性化することが知られている。Notch/Su(H) signaling は、細胞の分化、増殖、アポトーシスなど発生の多くの現象に関わっており、生殖系列においても、生殖巣内での精子や卵の形成に関与することが報告されている。私は内胚葉内を移動中の PGC において Notch signal が機能するという仮説のもとで実験を行った。その結果、PGC と内胚葉細胞の両方で *X-Notch-1*, *X-Delta-1* の発現が観察された。一方、*X-Delta-2*, *X-Serrate-1* は PGC で強く発現していた。Notch /Su(H) signaling の阻害コンストラクトである Su(H)^{DBM} mRNA を植物極表層に注入したところ、PGC が内胚葉の背側へ移動せず、内胚葉内に PGC が散在する様子が観察された。活性型 Notch である NICD mRNA を注入した場合においても同様の現象が見られた。PGC の移動を経時観察した結果では、Notch/Su(H) signaling の抑制と活性化のどちらの場合においても PGC の背側へ移動が阻害されていた。また、PGC 以外で mRNA の分解を促進する DEADSouth 3'UTR 配列を付加した Su(H)^{DBM} や NICD の mRNA を注入した場合でも同様の現象が観察された。よって PGC の移動には PGC 自律的な Notch/Su(H) signaling が必要であることが示唆された。さらに、PGC で発現している *X-Delta-2* について Molpholino よる翻訳阻害を行ったところ、PGC の移動が抑制された。よって PGC の移動には PGC 自律的な Notch/Su(H) signaling だけでなく、PGC と隣り合った内胚葉細胞における *X-Delta-2* を介した Notch/Su(H) signaling も必要であることが明らかとなった。これらの結果から、PGC が内胚葉中を背側に移動する過程において、Notch/Su(H) signaling が機能することが明らかとなった。

2. 論文審査結果

申請者である森近恵祐は、アフリカツメガエル胚の始原生殖細胞における Notch signal の機能について解析を行った。これまで、Notch signal は発生の様々な現象に関与することが知られていたが、始原生殖細胞における解析はなされていなかった。申請者は、始原生殖細胞を単離し、RT-PCR 法を用いることで、Notch signal のリガンドや受容体の発現について解析を行った。その結果、始原生殖細胞や周囲の内胚葉細胞で Notch signal のリガンドと受容体が発現していることを発見した。さらに、Notch signal の活性化や阻害により、始原生殖細胞の生殖巣への移動が阻害されること、この現象が始原生殖細胞自身の Notch signal と隣り合う内胚葉細胞での Notch signal の両方に依存することを発見した。これらの結果から、始原生殖細胞の移動には Notch signal が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 22 年 1 月 25 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査：渡辺 憲二 印

副査：大隅 隆 印

：樋口 芳樹 印

：木下 勉 印

(立教大学生命理学科、教授)