

氏名	多田 葉瑠
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博理第 8 0 号
学位記授与年月日	平成 2 6 年 3 月 2 0 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (課程博士)
論文題目	Investigation of the germ cell specification in <i>Xenopus</i> embryogenesis 「アフリカツマガエル初期胚における生殖細胞形成の解明」
論文審査委員	(主査) 教授 渡辺 憲二 (副査) 教授 大隅 隆 (副査) 教授 阪口 雅郎 (副査) 教授 木下 勉 (立教大学理学部生命理学科)

1. 論文内容の要旨

次世代を繋ぐ生殖細胞の形成機構は、2つのタイプに分ける事が出来る。第一は、線虫、ショウジョウバエ、カエル、ゼブラフィッシュの様に卵の一部に明確な生殖細胞質(germ plasm:GP)が存在し、GP が分配された細胞が始原生殖細胞(Primordial Germ Cells:PGCs)、そして将来生殖細胞へ分化する。第二は、イモリ、ニワトリ、マウスの様に、GP を持たず、発生初期に細胞間の相互作用により PGC が誘導される。

アフリカツマガエルでは、卵植物極表層に存在する GP は母性 mRNA、タンパク質、大量のミトコンドリアを含む。カエルに GP が発見されて以来、生殖細胞形成は GP によって細胞自立的に生じると推定されてきた。しかし、GP が生殖細胞形成に十分である事、初期の細胞間相互作用を必要としない事を示す実験的証拠はない。また、同じ両生類のイモリは GP が存在せず、PGC 形成に細胞間相互作用を必要とする。そのため、ツマガエル生殖細胞形成には、GP 以外に細胞間相互作用も必要である可能性が否めず長い間議論がなされてきた。

本研究では、カエル GP が生殖細胞形成に十分であるか、つまり GP は生殖細胞決定因子を含むか否かに注目した。GP を極端に異所的な環境、すなわち異所的な細胞間相互作用の下に置くことにより PGC 形成が誘起されるか検証を行った。EGFP で可視化された GP をもつトランスジェニックガエルを用い、GP を野生型胚の動物割球に移植し、追跡した。移植 GP を持つ細胞は、①移植 GP の細胞内局在が細胞質表層から核周辺へ再配置する ②GP 特異的分子(*Xdaz1*, *Xpat*, *Xnanos1* mRNA)を維持・発現する ③細胞培養実験から、高い細胞運動性を持つ事が分かった。移植 GP を持つ細胞が示した上記の特性は、各発生段階で本来の PGC が示すものと同じであった。また、異所から単離した GP を含む細胞は、本来の内胚葉環境に置けば、生殖隆起へ到達し、その後、機能的な

卵や精子へ分化することが判明した。以上の結果は、GP が極端に異所的な環境下でもその特性を維持し PGC 形成を起こすことを示した。本研究は、カエルつまり脊椎動物において初めて、「GP が生殖細胞決定因子を含む」事を直接的に示した。

2. 論文審査結果

生物が存続するために、生殖細胞系列を維持し、体細胞系列から切り離す仕組みが存在する。ある種の動物では、生殖細胞質 (Germ Plasm ; GP) が生殖細胞運命を決定する因子を含むと示唆されている。申請者はアフリカツマガエル GP の異所的な移植を行い、異所的な始原生殖細胞 (PGC) が形成されることを示し、脊椎動物の GP が「決定因子」を含むことを初めて明らかにした。移植実験の中で、GP による PGC 形成過程と、PGC の生殖巣への移動過程が明確に区分されることを示した。前者は、GP をもつ細胞が周辺細胞からのシグナルを受けつけず、PGC 形成に至る過程であり、後者は PGC が適切な内胚葉細胞からのシグナルを受け、生殖巣へ方向性をもって移動する過程である。本研究により、GP の役割が明確になり、始原生殖細胞の決定を生殖細胞質に依存するカエルと、細胞間相互作用に依存するマウスとの分子的な相違を明らかにする等、脊椎動物の生殖細胞形成の基本的な枠組みの解明に大いに貢献するものと期待される。

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 26 年 1 月 17 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。