

氏名	水戸川 和正		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学 術		
学位授与番号	博甲第 5739 号		
学位授与の日付	平成30年 3月23日		
学位授与の要件	自然科学研究科 生命医用工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	The role of nerves in <i>Xenopus laevis</i> froglets' limb regeneration (アフリカツメガエル四肢再生における神経の役割)		
論文審査委員	准教授 佐藤あやの	教授 妹尾 昌治	准教授 佐藤 伸
学位論文内容の要旨			
<p>無尾両生類アフリカツメガエル(<i>Xenopus laevis</i>)は有尾両生類とヒトを含む羊膜類との中間的な四肢再生能力をもつ。進化上有尾両生類と羊膜類の間にあるとされる無尾両生類の再生能力は有尾両生類に比べ低く、成体カエルの四肢再生体は不完全なものとなる。この再生体はスパイクと呼ばれ大部分が軟骨であり、その軟骨は関節や分岐構造をもたず一本の尖った構造である。多くの再生可能な動物、器官において神経の存在が再生プロセスのほぼ全般で必須であることが知られアフリカツメガエル四肢再生においても再生芽形成において神経依存性が確認されている。しかし現在までに、アフリカツメガエルにおいて再生芽形成後の形態形成プロセスにおける神経の関与は分子生物学的には知見が乏しくほとんど不明であった。</p> <p>本研究においては初めに再生芽へ大過剰に神経を供給し四肢再生能力が向上するかを確認した。四肢切断前に予め後肢の神経を前肢に移植し、神経が大過剰に供給された再生芽を形成させた。この神経が大過剰に供給された再生芽は再生体に分岐構造を誘導し、再生能力が向上することが示唆された。次に、大過剰神経の供給によって分岐構造の形成を引き起こす再生能力向上の分子メカニズムを検証した。分岐構造の形成を遺伝子発現で検証するため、四肢発生時に重要とされる形態形成関連遺伝子の変動を検証した。大過剰神経を供給された再生芽では通常の再生芽では発現が見られないまたは低いと報告されている形態形成関連遺伝子の発現の上昇を確認した。また大過剰神経の再生芽では細胞増殖の亢進がみられたため、再生能力を向上させる神経因子として増殖因子を想定しそれらの神経細胞での発現を確認した。そして、これらの因子が再生能力向上を担う分子かを検証するため、これらの増殖因子を徐放性のゼラチンビーズに吸着させたものを再生芽に移植し形態形成関連遺伝子発現の変化を検証した。結果、再生芽へこれらの因子を作用させることで形態形成関連遺伝子の発現が大過剰神経を供給した場合と似たように上昇することを発見した。最後に、再生芽にこれらの増殖因子を継続的に供給した場合、大過剰神経の供給と同様に分岐構造の形成を誘導できるかを検証した。結果、これらの増殖因子の供給では外見上の分岐構造の形成には至らなかったが、通常の再生体ではもたない関節様の軟骨の分岐構造の形成や再生体のサイズの変化を引き起こすことがわかった。</p> <p>以上の結果から成体アフリカツメガエルの四肢再生において大過剰の神経の供給によって再生芽における形態形成関連遺伝子の発現の上昇し、再生体の構造が分岐構造に変化することが示唆された。また、その再生体の構造を変化させる神経因子として <i>bmp7</i>, <i>fgf2</i>, <i>fgf8</i>, <i>shh</i> の4つを同時に再生芽へ導入したが似た形態形成関連遺伝子の発現を引き起こすものの、内部の分岐構造の形成に留まり外見形状の変化には更なる因子やメカニズムの存在が示唆された。</p>			

論文審査結果の要旨

生物の器官レベルの再生は、最新のバイオテクノロジー技術によってさえ、達成が非常に難しいもののひとつであり、このための技術の開発が非常に強く望まれている。

学位申請者は、モデル動物として、無尾両生類であるアフリカツメガエルを選び、器官レベルの再生に挑戦すべく、その分子メカニズムの解明に着手した。

学位申請者は、これまでに卒業論文 (*Regeneration*, 1(2), 26-36, (2014)), 修士論文 (*PLoS One*, 10(7), e013375 (2015)) 他で報告したように、アホロートルやイモリなどの有尾両生類では、器官レベルの再生が可能であるのに対して、無尾両生類であるアフリカツメガエルは、再生プロセスの開始はイモリなどと同じであるが、細胞を正しく配置し正しい場所で分化させるなどのパターン形成がうまく機能しないために不完全な再生が起こることを示し、独自にこの分野における知見を積み上げてきた。

学位論文研究では、アフリカツメガエルのもつ不完全な再生能力の向上に直接関係する遺伝子をつきとめ、分子メカニズムを解明した。これらの遺伝子を直接制御することにより、完全な再生が誘導されると考えられる。本研究成果は、生物の器官レベルの再生において、特定の分子によって担われる秩序だったパターン形成が重要であることを示し、器官再生研究分野への貢献が非常に大きいと考えられ、学位論文に値すると評価する。