

氏 名	衣畑 俊希
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博 甲第 6772 号
学位授与の日付	2023 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文題目	Involvement of a Basic Helix-Loop-Helix Gene <i>BHLHE40</i> in Specification of Chicken Retinal Pigment Epithelium (鶏胚網膜色素上皮の分化に塩基性ヘリックス-ループ-ヘリックス遺伝子 <i>BHLHE40</i> が関与する)
論文審査委員	教授 川口綾乃 教授 森實祐基 准教授 大野充昭

学位論文内容の要旨

眼の細胞分化と形態形成の最初期過程では、眼杯の内層と外層それぞれが神経網膜 (NR) と網膜色素上皮 (RPE) へ分化する。本研究では、マウスやゼブラフィッシュの発生期 RPE で発現することが知られる塩基性ヘリックス-ループ-ヘリックス遺伝子 *BHLHE40* に注目し、鶏胚を用いてその役割を解析した。まず、in situ hybridization により、眼原基における *BHLHE40* の発現パターンを調べた。次に、in ovo 電気穿孔法で右眼胞に *BHLHE40* を過剰発現し、眼杯の形態、NR マーカー(*VSX2*)および RPE マーカー(*OTX2*)の発現を調べた。さらに、眼胞に *LHX1* を過剰発現させて生じた異所性 NR における *BHLHE40* の発現を調べた。*BHLHE40* は Hamburger and Hamilton 発生段階 14(HH14)の正常眼胞に発現し、HH17 までに眼杯外層と毛様体辺縁部に限局した。将来 NR に分化する眼杯内層に *BHLHE40* を過剰発現させると、眼杯内層が薄くなり *OTX2* 発現は誘導、*VSX2* 発現は抑制された。*LHX1* 過剰発現後の異所性 NR では、*BHLHE40* 発現が抑制された。以上の結果より、初期眼胞において *BHLHE40* は *OTX2* の発現を維持し、*VSX2* 発現を抑制して NR 発生プログラムに拮抗することで RPE 分化を進行させることが示唆された。

論文審査結果の要旨

眼の発生過程では、前脳の一部から双方向に形成された眼胞の一部が陥凹し眼杯が形成され、この眼杯の内層が神経網膜 (NR)に、外層が網膜色素上皮 (RPE)へと分化する。本研究では塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス遺伝子 *BHLHE40* に注目し、その鶏胚での RPE 分化と眼形成における機能を検討した。眼胞への *BHLHE40* 過剰発現および転写因子 *LHX1* 過剰発現等の実験結果から、*BHLHE40* は RPE 関連の転写因子 *OTX2* 発現を維持し、また NR 関連の転写因子 *VSX2* 発現抑制することにより RPE 分化をもたらし機能を持つことが示唆された。

委員からは、実験の具体的手技や、細胞増殖制御を含む *BHLHE40* の機能、また *BHLHE40* 発現の制御機構についての質問等がなされたが、いずれも適切な回答がなされた。

本研究は鶏胚での RPE 分化における *BHLHE40* の機能を示したものであり、眼発生における細胞分化と形態形成の分子機構について重要な知見を得たものとして価値ある業績と認められる。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。