

# 主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	奥 村 典 子
<b>主 論 文 題 名</b> $\beta$ -Catenin functions pleiotropically in differentiation and tumorigenesis in mouse embryo-derived stem cells (マウス胚由来幹細胞における分化および腫瘍発生に果たす $\beta$ -cateninの多面的役割についての解析)				
<b>(内容の要旨)</b> <p>Wnt/<math>\beta</math>-cateninシグナル経路は進化上種を超えて広く保存されており、様々な細胞の増殖と分化を制御し、胚発生から成体組織の恒常性維持まで重要な役割を果たしている。このため胚性幹 (ES) 細胞の増殖維持にも必須と考えられてきたが、ES細胞の機能特性とWntシグナル経路との関連の詳細については未だ解明されていない。本研究ではWntシグナル経路で細胞内シグナル伝達を担う<math>\beta</math>-cateninを欠損したマウス胚由来のES細胞を用いて、ES細胞の生物学的特性と関連した<math>\beta</math>-cateninの多面的な役割をあきらかにすることを目的とした。また、その過程で胚細胞腫瘍発生における新たな知見が得られたので報告する。</p> <p>方法として、まず受精卵特異的に<math>\beta</math>-cateninを欠損させたマウス胚から<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>マウス (m) ES細胞を樹立し、未分化能、自己複製能、多分化能について野生型との比較解析を行った。</p> <p>未分化能について、蛍光免疫染色法と定量的PCR法による未分化ES細胞特異的発現遺伝子 (Oct4, Sox2, Nanog) の発現解析により評価したところ、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞は野生型ES細胞と差は認められなかった。次に自己複製能について細胞増殖速度により評価を行ったところ、野生型ES細胞と増殖能は同等であった。これらの結果より、<math>\beta</math>-cateninはマウスES細胞の自己複製能および未分化性維持には必須ではないことが示唆された。最後に多分化能について、<i>in vitro</i>での解析として胚様体 (EB) を作成し、EB14日目まで継続的に遺伝子発現変化を定量的PCR法により解析を行った結果、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞において著明に分化が阻害されていることが示された。さらに<i>in vivo</i>での多分化能解析を目的とし、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞を胚盤胞へ導入しキメラ形成能の評価とヌードマウスへ移植し、腫瘍形成能を病理組織学的評価および網羅的定量PCR解析により評価した結果、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞由来の腫瘍組織に中内胚葉分化組織は認められず、また、キメラ産仔を得ることはできなかった。さらに、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞由来の腫瘍組織を病理学的に検討した結果、混合性悪性胚細胞腫瘍 (セミノーマ、胎児性癌、絨毛癌) であることが判明した。一方、野生型ESC由来の奇形種は三胚葉への分化が認められ、また、キメラ個体を得ることができた。<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞にみられた分化異常は<math>\beta</math>-cateninを再導入することで回復できた。これらの結果から、<math>\beta</math>-cateninはES細胞の運命決定に必須であることが示唆された。</p> <p>本研究から、マウスES細胞においてWnt/<math>\beta</math>-cateninシグナル経路が自己複製能に必要ではないが、分化多能性の維持には必須であることを明らかにした。また、Wnt/<math>\beta</math>-cateninシグナル経路の恒常的な活性化が腫瘍形成の原因になることは知られていたが、本研究では<math>\beta</math>-cateninを失うことで腫瘍化が認められるという新規の知見が得られた。また、<math>\beta</math>-cat<sup><math>\Delta/\Delta</math></sup>mES細胞は混合性胚細胞腫瘍の初の動物モデルであり、組織恒常性と腫瘍化を研究するうえでの重要なツールとなりうることが期待された。</p>				