

| | |
|----------|--|
| 氏 名 | いり え なお き 入 江 直 樹 |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 医 博 第 3196 号 |
| 学位授与の日付 | 平 成 20 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 |
| 研究科・専攻 | 医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻 |
| 学位論文題目 | The vertebrate phylotypic stage and an early bilaterian-related stage in mouse embryogenesis defined by genomic information (ゲノム情報を用いたマウス胚発生におけるファイロティピック段階と早期左右相称動物関連胚段階の同定) |
| 論文調査委員 | (主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 中 辻 憲 夫 教 授 松 田 文 彦 |

論 文 内 容 の 要 旨

背景：様々な脊椎動物の胚発生において、胚が互いに形態学的に類似するような発生段階が存在していると考えられている。この発生段階は「脊椎動物ファイロティピック段階」と呼ばれており、現存する脊椎動物の共通祖先が持っていた基本的なボディープランを反映しているものだと考えられている。しかしながら、このファイロティピック段階が各動物でどの胚段階に現れるのかについては見解の一致が未だみられておらず、その存在に懐疑的な意見もみられる。これら見解の不一致は定性的な形態学的比較によってのみファイロティピック段階を定義しようとするところにあると思われる。本研究では Expressed Sequence Tag (EST)、Gene Ontology (GO)、及び様々な生物種のゲノム情報を用いて、拘束された胚段階を数値評価する方法論を確立した。ファイロティピック段階では強い発生拘束を受けているとされており、実際にファイロティピック段階が存在するのであれば、脊椎動物に保存された遺伝子群の発現比率が高くなると予想される。

結果：本研究では、形態学的な種間比較を用いることなく胚段階の祖先性を評価する新たな方法論を確立した。「Ancestor Index」と名付けたこの数値評価系によると、マウス胚発生では咽頭弓及び体節形成期にあたる胎生 8.0 日から 8.5 日が脊椎動物の祖先から最も保存されていることが示唆された。この時期には、GO データベースによって同定された脊椎動物に保存された発生関連遺伝子群の発現比率が最も高くなることも示された。さらに、発現している遺伝子群には変異体が胎生致死となる遺伝子群が多くみうけられた。一方で Ancestor Index の方法論を拡張し、左右相称動物の祖先から保存されていると考えられるマウス胚段階を評価したところ、ファイロティピック段階より早期にあたる、段階卵割期から原腸胚までの時期になることが示唆された。

結論：本研究により、少なくともマウス胚発生においては発生中期に強く拘束された胚段階が存在することが示唆され、ファイロティピック段階の存在が支持された。また、このファイロティピック段階の候補となる胚段階は、左右相称動物に保存されているであろう胚段階の後に訪れることが示唆され、フォンベアによって提案された、進化と胚発生の階層性を一部支持するものであった。本研究の方法論を用いて様々な動物種や組織における保存性を評価することは、多角的にファイロティピック段階仮説を検証することに繋がるだけでなく、どういった発生プロセスや組織が保存されているのかを解明する手だてになりうることを期待される。また、これら知見の蓄積は発生が動物の基本ボディープランをどのように限定していくかを理解するのに重要であると考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脊椎動物の胚発生では、その共通祖先から最も保存されてきた胚段階が発生中期に存在するとされている。この胚段階は「脊椎動物ファイロティピック段階」として広く受け入れられているが、その根拠は形態学的類似性によってしか示されておらず、この仮説に懐疑的な報告も少なくない。申請者はマウス各胚段階で発現する遺伝子群を EST より抽出し、様々な生物のゲノムに対して網羅的な相同性検索を行うことで進化的に保存された遺伝子群の発現比率を決定した。これにより形

態学的類似性を指標とすることなく、保存された胚段階を数値評価する **Ancestor Index** と名付けた新しい方法論を確立した。マウス胚発生では咽頭弓及び体節形成期にあたる時期にファイロティピック段階が存在しうることを示し、多数の発生必須遺伝子の発現を確認した。さらに申請者は、左右相称動物の祖先から保存されてきたと考えられる胚段階が、発生のより早期にあたる段階卵割期から原腸胚の時期に存在しうることも示した。

以上のようにファイロティピック段階の存在がゲノムレベルで支持されたことは、脊椎動物の形態形成や器官形成機構の解明に大きく貢献するものである。さらに、申請者が開発した方法論は、進化と胚発生の関係性解明にこれまでなかった具体的数値評価系を導入するものであり、今後胚発生や器官形成をゲノムレベルで理解していく基盤となりうることから、医学に寄与するものである。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成 20 年 1 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。