

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	刘 柏岐
論文題目	The gene regulatory network in the anterior neural plate border of ascidian embryos (ホヤ胚の前方神経板境界における遺伝子調節ネットワーク)		
(論文内容の要旨)			
<p>頭部プラコードは、脊椎動物が獲得した形質であると考えられてきた。ホヤは脊椎動物にもっとも近縁な無脊椎動物であるが、神経板の前方にプラコード様の細胞を持っていることが明らかになりつつある。<i>Foxg</i>遺伝子は、脊椎動物のプラコードおよび脳の最前方に生じる終脳の発生に重要な働きを持っていることが知られているため、本研究では、プラコードおよび終脳の進化的起源を理解する目的で、ホヤ胚における<i>Foxg</i>遺伝子の発現と機能を調べた。</p> <p>ホヤの初期神経胚の神経板前方境界領域は4列の細胞から構成され、前方3列は幼生の変態時に必要な付着突起を作り出し、最後方の1列は成体の入水口の原器を作り出すことが知られている。この領域における<i>Foxg</i>遺伝子の発現を調べたところ、もっとも前側と後ろ側の2列に発現していた。同様にこの領域に発現することが知られていた<i>Emx</i>、<i>Zf220</i>、<i>Isf</i>遺伝子の発現を詳しく調べたところ、<i>Emx</i>は4列の神経板前方境界の細胞のうち、中央2列で発現していた。<i>Zf220</i>は、神経胚期に続く初期尾芽胚期に、<i>Foxg</i>または<i>Emx</i>を発現する細胞の一部で発現していた。中期尾芽胚までには、<i>Foxg</i>と<i>Zf220</i>は相互排他的な発現パターンを確立していた。この時期に<i>Foxg</i>を発現する細胞は、幼生の変態時に必要とされる付着突起の突起部分を作り出す細胞であり、<i>Zf220</i>や<i>Emx</i>を発現する細胞は付着突起の基部を作り出す細胞であった。</p> <p>次に<i>Foxg</i>遺伝子のノックダウンをおこなったところ、<i>Emx</i>の発現がひろがり、付着突起の正常な形成が妨げられた。しかし、入水口原器には明確な異常は認められなかった。脊椎動物では、<i>Foxg</i>は終脳の発生や、耳プラコードの発生にも重要であるが、ホヤ胚における<i>Foxg</i>遺伝子のノックダウンでは、幼生の脳や、耳プラコードに相当すると考えられている出水口原器に異常は認められなかった。次に、<i>Foxg</i>の上流調節機構を調べたところ、<i>Foxc</i>遺伝子およびMAPK (mitogen-activated protein kinase)シグナル伝達経路によって制御されていることが分かった。また、<i>Zf220</i>が<i>Foxg</i>の発現を抑制していることも分かった。</p> <p>神経板前方境界における遺伝子発現はBmp (bone morphogenetic protein)によっても調節されていた。この領域では、AdmpとBmp5/6/7/8の2つのBmpリガンド遺伝子が発現しており、また、アンタゴニストであるChordinとNoggin遺伝子が側方および後方に発現していた。こうしたリガンドとアンタゴニストの作用によって、前方列の中央付近では高いBmpシグナル活性が認められ、前方列における<i>Zf220</i>の発現に必要であった。脊椎動物では、頭部プラコード内の複数の発生運命の特殊化にBmpシグナルが使われており、こうした共通の発生機構は、脊椎動物とホヤの共通祖先がプラコード様の細胞を持っていたとする説を支持する。</p> <p>このように本研究では、ホヤ胚の神経板前方境界における遺伝子回路を明らかにした。この遺伝子回路は神経板前方境界内の細胞特殊化の発生機構を明らかにするのみならず、頭部プラコードと終脳の進化的起源についても洞察を与えるものである。脊椎動物では<i>Foxg</i>は分泌性のシグナル分子をコードする<i>Fgf8</i>と正のフィードバックループを作り、プラコードおよび終脳領域で発現を維持している。<i>Fgf8</i>はMAPKシグナル伝達経路を通じてそのシグナルを細胞内に伝える。ホヤの神経板前方境界および脳の前方領域ではいかなる<i>Fgf</i>遺伝子も発現していないが、<i>Foxg</i>遺伝子はMAPKシグナル伝達経路による調節を受けている。つまり、脊椎動物とホヤの共通祖先において、現存の脊椎動物に認められる<i>Fgf8</i>-<i>Foxg</i>のフィードバックループの一部が存在し、プラコード様構造の形成に使われていたことを示唆するものである。また、<i>Fgf</i>遺伝子が<i>Foxg</i>遺伝子の下流因子としてリクルートされたことが脊椎動物の終脳獲得に重要であったとする仮説を提示する。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

複雑な頭部構造は脊椎動物を特徴づける重要な形質である。この脊椎動物の頭部構造の形成には、頭部プラコードや神経堤とよばれる胚の神経板境界領域の細胞が大きな役割を果たす。そのため、頭部プラコードや神経堤は、脊椎動物の進化の過程で獲得されたと考えられてきた。しかしながら、近年の研究によって、脊椎動物にもっとも近縁なグループである被嚢類に、頭部プラコードや神経堤と進化的起源を共有する構造が存在していることが明らかになりつつある。被嚢類に属するカタユレイボヤの胚では、こうした頭部プラコード様細胞や神経堤様細胞の分化の背景にある遺伝子調節機構が解析され、進化の過程で起こった遺伝子調節機構の変化の一部が明らかになっている。

脊椎動物の頭部に分化する脳は形態的・機能的にいくつかの領域に分かれているが、終脳と呼ばれる最前方の構造は脊椎動物に特異的であると考えられている。この脊椎動物の終脳は、頭部プラコードを生み出すanterior neural ridgeと呼ばれる構造からの誘導を受けて分化することが知られている。被嚢類に頭部プラコード様の細胞があるとするならば、被嚢類でもそれが脳の領域化に関与している可能性がある。したがって、被嚢類におけるプラコード様細胞の発生の背景にある分子機構の解析によって、プラコードの進化的起源のみならず、終脳の進化的起源の解明が進むことが期待されていた。

申請者は、脊椎動物のプラコードおよび終脳で重要な働きをもつ*Foxg1*遺伝子のオーソログである*Foxg*の発現と機能をカタユレイボヤにおいて調べることで、この問題に取り組んだ。第一に、*Foxg*の時空間的発現パターンを細胞の単位で調べ、この遺伝子が神経板の前方境界領域の一部で発現するものの、幼生の脳や変態後の成体の脳では発現していないことを明らかにした。この観察結果はホヤの神経板の前方境界領域が脊椎動物のプラコードと進化的起源を共有するという説を支持するものであり、また、形態的に終脳に相当する構造がホヤには見つからないこととも一致するものであった。実際に、*Foxg*のノックダウン解析では、その影響はプラコード様細胞の系譜に限られており、脳の形成には形態的な面でも遺伝子発現の面でも異常が認められなかった。次に申請者は*Foxg1*に調節される遺伝子を同定して*Foxg*がプラコード様細胞のパターン形成に中心的な役割を果たしていることを明らかにした。また、*Foxg*の調節機構を解析して*Foxg*の特異的な発現にはMAPKシグナル伝達経路の活性化が必要であることを示した。脊椎動物でも*Foxg1*はMAPKシグナル伝達経路によって活性化されることが知られている。この*Foxg1*が、MAPKシグナル伝達経路を活性化する分泌性のシグナル分子Fgf8をコードする遺伝子の調節をおこない、正の制御ループを作っている。ホヤ胚では、*Foxg*の発現する細胞にはFgf8オーソログを含むFgfファミリーの分子をコードする遺伝子は発現していなかった。こうしたことから、被嚢類と脊椎動物の共通祖先は、プラコード様細胞を持っていたものの、そのプラコード様細胞あるいはその前駆細胞は脳の前方を領域化する能力を持っていなかった可能性が高いことが示唆された。また、この研究の結果は、二つの動物群が分岐した後の脊椎動物の系譜でFgf8が*Foxg1*によって調節されるという機構が獲得され、それが終脳の進化の鍵となった可能性があることを示唆している。実験は緻密におこなわれ、遺伝子調節回路の解析に基づいて進化の過程を推測するという論理も十分に説得力があった。脊椎動物の進化的起源を考えるうえで重要な知見を与えるものと評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、2020年1月16日に論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降