

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	遠藤 良典
論文題目	Comparative study of mammalian evolution by genomic analyses and pluripotent stem cell technology (遺伝子解析とiPS細胞技術を用いた哺乳類の比較進化研究)		
(論文内容の要旨) 哺乳類は進化により様々な生体機能を発達させてきた。その違いを解明することは、絶滅危惧種を保全するためにも重要である。野生動物などの非モデル生物の生体機能を調べることは困難なため、ゲノム情報や細胞を用いた解析が有効である。そこで本申請論文では、遺伝子解析とiPS細胞技術を用いて種間比較を行った。 鯨類の海棲適応は、哺乳類の進化史上最も劇的なイベントの一つであるが、水中での体温調節などに重要な役割を果たす脂質代謝機能の進化はまだ解明されていない。そこで第二章では、脂質代謝に関連する遺伝子群を、海棲と陸棲の鯨偶蹄目で種間比較した。その結果、鯨類の脂質の消化・貯蓄・エネルギー生産などに関わる遺伝子群が、正の選択を受けて大きく変化していることを発見し、鯨類の適応進化に伴う生体機能の発達について、新たな知見を得ることができた。 遺伝子の変化が表現型に及ぼす影響を明らかにするには、細胞実験による検証が有効である。しかし野生動物の組織からつくられる培養細胞の多くは線維芽細胞であり、検証できる表現型は限られている。多能性幹細胞(PSCs)は、分化能と自己複製能を持ち、組織に分化させることで検証の幅が広がる。人工多能性幹細胞(iPSCs)技術により、霊長目、反芻亜目、絶滅危惧種のキタシロサイなど様々な動物種からiPSCsが作製されている。しかしこれらの報告からは、iPSCsの性質には様々な種間の相違が示唆されており、哺乳類PSCsの進化を理解する重要性が高まっている。第三章では、哺乳類の多様な系統を網羅した種を対象に、多能性維持ネットワークを形成する遺伝子群の配列を、第二章と同様の方法で種間比較した。その結果、哺乳類の種間で保存あるいは多様化している経路を特定することに成功した。ミンククジラの <i>KAT6A</i> など多数のガン関連遺伝子において正の選択が検出され、体の大きな動物が獲得しているといわれるガン耐性に関連すると考えられる。同様に体の大きいゾウでもガン関連遺伝子における正の自然選択を検出した。PSCsでは多くのガン関連遺伝子が働いており、種特異的な適応進化が、PSCsの性質の多様性とも関連する可能性が示された。実際にPSCsを用いることで、遺伝子発現や表現型変化等の様々な検証が可能となる。第四章では、絶滅危惧種グレビーシマウマから新たにiPSCsを作製した。作製したiPSCsは多能性マーカーを発現しており、プライム型の性質を示した。遺伝子発現を他の哺乳類のPSCsと比較したところ、遺伝子発現の変動パターンは種間で分散しており、PSCsは種ごとに異なる遺伝子によって維持されていることが示唆された。第三章で比較した多能性関連遺伝子の塩基配列は哺乳類の系統と一致していた。しかし第四章の解析では、遺伝子発現パターンは種ごとに大きく異なっていた。したがって、哺乳類PSCsの種間多様性には、PSCs維持に関与する遺伝子群の発現パターンが大きく影響すると考えられた。一方で、哺乳類PSCsに共通して発現が変動する遺伝子の塩基配列は保存されていなかった。今後、さらに多くの種のiPSCsを用いたエピジェネティック研究などにより、これら関連遺伝子群の発現変動の制御過程を探ることが、哺乳類PSCsの種間多様性の理解、さらにはヒトでも全容が明らかになっていない多能性幹細胞機能の解明に繋がるかもしれない。			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

生物多様性は加速度的に減少している。野生動物を保全するためには、生体機能の理解が必須である。しかし非モデル生物の生体機能を調べることは、技術的・倫理的問題から困難が大きい。本申請論文では、適応進化遺伝学的な遺伝子解析とiPS細胞技術を用いて生体機能の種間差を比較した。

申請論文の主要部分は五つの章から成っている。第一章の序論では、種間比較による生体機能の進化の理解のために遺伝子解析とiPS細胞技術を用いる意義について述べた。第二章では、水棲の鯨類を対象に、脂質代謝に関連する遺伝子の塩基配列を比較して、特異的な適応進化に伴う選択圧を検討した。その結果、鯨類の脂質代謝の中でも特に肝臓で働くベータ酸化経路の遺伝子群に大きな配列変化があることを明らかにした。これらの遺伝子の機能は、肝臓の細胞を用いることで実験的に検証することが可能となるが、鯨類の肝臓の入手は困難である。ヒトではiPSCsからの肝臓細胞樹立法が研究されているが、これまで鯨類のiPSCs樹立の報告はない。続く第三章では、iPSCs樹立には種間差が大きいことから、第二章と同様の方法を用いて、哺乳類の多様な系統を網羅した種を対象に、多能性維持ネットワークに含まれる遺伝子の塩基配列を比較した。これにより、例えば鯨類など体の大きな種でガン関連遺伝子が他種と異なっていることなど、これまで理解が進んでいなかった哺乳類PSCsの進化について新たな知見を見いだした。これらの知見は鯨類iPSCs作製の鍵となる可能性がある。さらに第四章では、絶滅危惧種グレビーシマウマから新規にiPSCsを作製し、様々な哺乳類のPSCsにおける遺伝子発現プロファイルを比較した。その結果、遺伝子配列と遺伝子発現パターンの種間差は一致していないことが示唆された。絶滅危惧種に由来するiPSCsの報告数は限られており、今後は本研究で得られたiPSCsを多様な細胞に分化させることにより、グレビーシマウマの病理の解明や生体機能の研究に貢献することが期待される。第五章の総合考察では、遺伝子の配列と発現パターンから表現型の種間差を説明可能な事例について考察した。

本研究は、適応進化遺伝学とiPS細胞技術を併用しており、進化研究に新たな道を拓くものである。本研究で用いた遺伝子解析の手法は、これまで個体を用いた研究が難しかった野生動物の生体機能や初期発生メカニズムの解明などに活用できる。哺乳類PSCs関連遺伝子の種間差に関する知見は、様々な動物種に由来するiPS細胞の作製や、培養条件の最適化への応用が期待される。さらにiPS細胞技術を広く野生動物に展開し、細胞試料を活用して生体機能を実験的に検証することにより、種の保存にも重要な貢献が期待される。

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、令和3年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、（令和4年3月19日までの間）当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日：令和 年 月 日以降