

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 松下優貴

松下優貴氏の博士論文「Dynamical systems theory of cellular differentiation and reprogramming; Interplay between fast gene-expression dynamics and slow epigenetic feedback regulation (細胞分化とリプログラミングの力学系理論; 速い遺伝子発現ダイナミクスとエピジェネティック制御との相互作用)」は4章、87ページからなり、細胞分化とリプログラミング過程を速い遺伝子発現ダイナミクスと遅いエピジェネティック制御との相互作用の観点からシミュレーションと力学系理論により調べたものである。

一般に多細胞生物では、発生過程で細胞がいくつかの異なるタイプに分化する。ここで各細胞は同一遺伝子を持ち、その発現状態の違いで各細胞タイプは表現される。初期の細胞は他の細胞になりうる多能性 (Pluripotency) を有し、一方で分化が進むとその能力は不可逆的に失われていく。注目すべきは、発生過程は非常に複雑な反応からなるにもかかわらず、作られる各細胞種類とその状態、分化過程、各細胞タイプの比率がノイズや環境の摂動に対して頑健である点である。

こうした頑健な発生過程と細胞分化の不可逆性を理解するために Waddington は 60 年以上前にエピジェネティック地形を導入し、分化過程を各細胞タイプへの分化を枝分かれする谷からなる地形として比喩的に表現した。近年になってこの描像は実験生物学者からも採用されるに至っているが、この分岐を伴う地形変化がどのように力学系理論で表せるかについてはまだ不完全にしか理解されていない。その谷のそれぞれが遺伝子発現の力学系におけるアトラクターで表されるとしても、下流に向かって変化する地形は理論的にどのように表現されるのだろうか。

その一方、正常な発生過程では不可逆なこの分化過程が外部操作によってもとの多能性を回復させられることが Gurdon により示され、後に少数遺伝子の強制発現でこの回復 (リプログラミング) が可能であることが高橋、山中によって示され、iPS 細胞と名づけられている。では、リプログラミングによりどのようにして地形の上流に戻れるのか、そしてそれは近年明らかになってきたエピジェネティックな修飾過程との関連でどのように理解できるのだろうか。本博士論文の第1章ではこうした研究の背景が概観されている。

このような細胞分化過程の力学系研究では遺伝子同士の活性化、抑制の相互作用を遺伝子制御ネットワークで表した力学系モデルが広く用いられている。第2章ではこれにエピジェネティック変化の変数を加えた細胞モデルが導入される。それぞれの遺伝子発現は遺伝子同士の相互作用にしたがって変化し、一方でエピジェネティック変数は各遺伝子が発現するための閾値を与え、それは遺伝子発現から正のフィードバックによって変化する。これは発現した状態は発現しやすくなり、していないと発現しにくくなるという知見をふまえたもので、発現している/いないと閾値が下がる/上がることを表している。

ここで発生過程は(1)階層的な分化プロセス (2)ホメオレシスとも呼ばれる、分化過程自体の頑健性 (ロバストネス) (3) 分化細胞の比率の安定性の3点を持つことを要請し、これが今のモデルでどのように実現するかが調べられる。具体的には、コンピュータ上で様々なランダム遺伝子制御ネットワークを生成し、その細胞の時間発展をシミュレーションされる。その結果、エピジェネティック制御の変化が遺伝子発現の変化より遅く、かつ初期

に遺伝子発現が振動している時にこの3つの性質が実現するが示される。(その一方で振動過程がないと上記の3要請を満たすことは困難である)。力学系の分岐解析を用いて遺伝子発現のグローバルな振動状態がエピジェネティック制御によって階層的に固定化されることで細胞分化の階層性が実現し、この過程がノイズに対して頑健であり、各細胞タイプの比率も初期条件によらないことが示される。そして、この結果を用いて Waddington のエピジェネティック地形が抽出される。

第3章ではこの遺伝子発現の振動とエピジェネティックな制御をふまえて細胞のリプログラミングの力学系理論が構築される。まず初期の多能性を持った状態自体はそこから分化していく不安定性を有している。つまりエピジェネティック変数の力学系としては、初期の多能性を持つ状態は吸引方向を持つけれども分化が進む方向をも持つ鞍点として表現される。ここでリプログラミングが広く成立することは遺伝子発現の部分的操作だけでその鞍点近傍に戻れることを含意する。通常の鞍点であれば、その近傍に戻すにはその安定多様体直上に置くというきわめて高度な制御が必要になるので、戻すのは困難のはずである。この章では、速い時間スケールでの遺伝子発現振動と遅いエピジェネティック制御との相互作用により、不安定多様体への吸引という一見相矛盾する過程が一般に実現することが示される。理論的には、エピジェネティック変数空間での鞍点からの不安定性が非線形効果で抑圧されることがシミュレーションで示され、断熱極限での解析で明らかにされる。この解析から、鞍点近傍、つまり多能性を持った状態への大域的な吸引が生じ、そこから不安定多様体にそって分化が進行することが示される。これによりリプログラミングが広い初期条件(異なる分化した細胞状態)から起こることが説明される。以上の結果は単純な3遺伝子系で詳しく解析され、またランダムに選んだ10遺伝子系モデル、さらには現実のES細胞の発現ネットワークを単純化したモデルでも確かめられている。

この一連の結果から Waddington 地形は次のように理解される。まず、最上流には広い谷があり、これは振動状態で表現されている。そして、谷の枝分かれは振動状態が階層的に固定化されていくことに対応している。そして、地形を制御するエピジェネティックな変数が上流から下流へと下っていく細胞分化そしてリプログラミングのための大域的吸引を可能にする。ここで、リプログラミングの軌道は細胞分化とは異なる道筋を通る。最後に、第4章では、こうした論文のまとめとそれから本描像がもたらす、発生、適応過程への新しい展望が示される。

以上、松下優貴氏の博士論文では、速い振動と遅い変数へのフィードバックを持つ力学系での新しい現象を発見し、新規の概念を導入している。それは今後の細胞分化と発生研究への新しい基盤を与えうるものである。もちろん、本博士論文で導入された概念を理論的に一般化し精緻化するのとは今後の大きな課題であり、また実験との対応づけは今後を待つべき点も多い。とはいえ、本博士論文の結果は今後への重要な一歩となる知見を多く与えている。

なお、本論文のうち第2章の内容は既に *Physical Review Research* 誌に出版され、第3章の内容は現在論文投稿中である。本論文のうち第2章の内容は、金子邦彦との共同研究、第3章の内容は金子と畠山哲央との共同研究であるが、論文の提出者が彼独自のアイディアを数理的に定式化し、シミュレーション、理論解析を行ったものであり、どの章も論文提出者の寄与が大きいと判断される。

よって本論文は博士(学術)の学位請求論文として合格と認められる。