論文審査の結果の要旨

氏名　河西　通

脊椎動物に見られる背腹の差異を生み出す機構については、モルフォゲンの濃度勾配に基づいて初期胚に背腹軸が形成される過程について精力的に研究されてきた。しかし、発生後期において形態的に背腹のパターンの違いが生じる機構に焦点を当てた研究はこれまでに行われていない。そのため、発生初期に形成された背腹軸がどのような過程を経て成体にみられる背腹パターンをもたらしているかについては不明であった。

メダカ *Da* 変異体の成体は、背鰭、背側の体色、側線器官の配置など体幹にみられる複数の外部形態が腹側と同一のパターンを示す。しかし、発生初期の背腹軸形成は正常に進むため、*Da* 変異体は発生後期における背腹パターン形成に異常を持つと考えられる。*zic1* および *zic4* はともに zinc finger 型の転写因子をコードする遺伝子であるが、先行研究により *Da* 変異体は *zic1* および *zic4*（*zic1/zic4*）の転写調節領域に変異を持つことが報告されている。*zic1/zic4* の発現部位は、野生型ではいずれも神経管および体節の背側領域であるが、*Da* 変異体では両遺伝子の発現がとくに体節において著しく低下する。以上から、体節における *zic1/zic4* の発現が、体幹部の背腹パターン形成に関与している可能性が考えられた。

本論文は２章から構成される。第１章においては、メダカ体幹背側形態の形成過程における *zic1/zic4* 遺伝子の機能解明に焦点が当てられた。まず遺伝子発現解析および形態学的解析から、*zic1/zic4* の発現低下により体節およびその派生組織が背側の性質を失い腹側化していることがわかった。さらに、メダカ胚における組織移植実験系を新たに確立し、野生型胚由来体節の移植実験を行ったところ、移植領域において *Da* の表現型が局所的に回復した。したがって、体節細胞が *zic1/zic4* の発現を通して外胚葉および神経堤由来組織と局所的に相互作用することによって、外部形態の背側化を誘導していることが明らかとなった。

体節移植実験において孵化後にも表現型回復がみられたことから、*zic1/zic4* が胚発生期以降も発現している可能性が考えられた。そこで、*zic1/zic4* の空間的な発現パターンを長期にわたって精査したところ、*zic1:GFP/zic4:DsRed* トランスジェニックメダカにおける GFP および DsRed の発現は体節由来組織の背側領域全体に及び、しかも成魚に至るまで維持されていた。定量的 PCR による解析と合わせて、*zic1/zic4* が胚発生期から生涯にわたり体幹背側領域全体に発現する遺伝子であることがわかった。続いて、*zic1/zic4* の長期にわたる発現がどのようにして制御されているのかを調べた。*zic1:GFP/zic4:DsRed* トランスジェニック胚を用いた体節移植実験および体節単離培養実験から、体節形成期における体節での *zic1/zic4* の発現は、周囲の組織による誘導を受けているものの、体節形成完了期においては周囲の組織に非依存的に制御されていることが示唆された。*zic1/zic4* の自律的な発現制御に

より、*zic1/zic4* 発現細胞が体幹背側領域全体へ移動して発生初期の背腹軸情報が散逸した後も、*zic1/zic4* が継続して背側外部形態を制御することを可能にしていると考えられる。

第２章では、背側形態の多様性と *zic1/zic4* による背側化機構との関係が議論されている。まず *zic1/zic4* を介した背側形態形成機構が種を超えて保存されているかどうかを調べるため、ベタに着目した。common type のベタは野生型メダカ同様、*zic1/zic4* が体節背側において発現していた一方、ベタの一変種 *Double tail* は背側形態が腹側化しており、*zic1/zic4* の発現も体節特異的に消失していた。このことから、*zic1/zic4* の機能が魚類に広く保存されていることが示唆された。

一方、*Da* 変異体のホモ、ヘテロ接合体および野生型メダカの表現型解析より、背鰭形態および背側の体型が *zic1/zic4* の遺伝子数に依存して量的に変化することがわかった。さらに、*zic1* の過剰発現により背鰭形態が縮小したことから、*zic1/zic4* の発現量に応じて背側形態のバリエーションが形成されることが示唆された。そこで、背腹方向の形態に特徴のあるディスカス、エンゼルフィッシュ、コリドラスの胚について *zic1/zic4* の発現パターンを検証したところ、いずれもメダカ野生型と同様に体節背側領域で発現していた。以上から、魚類を通じて *zic1/zic4* の体節における発現様式は保存されており、亜種間での背側形態の差異は *zic1/zic4* の発現量変化によって作られる可能性が提示された一方で、種間や科間で見られる背側形態の多様性は主に *zic1/zic4* 発現量ではなく、その下流の遺伝子群の変化により生じていると示唆された。

本研究は、*zic1/zic4* の役割の解明により、脊椎動物の背腹パターンが生み出される機構について、発生後期における背腹パターン形成の重要性を示した。さらに、魚類を含む脊椎動物の背側形態の多様性の発生基盤を説明するモデルを初めて提示した。これらの成果は、本研究は今後の発生学研究に新たな視点をもたらすものであり、高く評価できる。

なお、本論文第１章は、兼子拓也氏、守山裕大氏、木下政人氏、横井勇人氏、鈴木徹氏、島田敦子氏および武田洋幸氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。