

審査の結果の要旨

氏名 北沢 太郎

本研究は脊椎動物の咽頭弓の発生過程において重要な役割を演じていると考えられる *Hox*・*Dlx* 転写遺伝子群の性質を解析し、さらにそこから茎状突起や鼓膜などの羊膜類の中耳の進化発生に関する知見をもたらしたものであり、下記の結果を得ている。

1. CAG-lox-stop-lox-*Hoxa2* カセットを *ROSA26* の遺伝子座にノックインし、神経堤細胞特異的に *Cre* を発現させる *Wnt1-Cre* マウスと掛け合わせることで、神経堤細胞特異的に *Hoxa2* を過剰発現させた。この結果、本来第 1 咽頭弓 (PA1) に遊走していく *Hox* ネガティブな神経堤細胞を *Hoxa2* ポジティブにすることに成功した。この結果、PA1 の遠位部の構造は低形成となったが、近位部の構造は第 2 咽頭弓 (PA2) 様に (鏡像対称で) ホメオティック変異することが明らかになった。
2. 上記のホメオティック変異は骨格・筋肉の付着・遺伝子の発現パターンについて PA1 の PA2 化が確認できた。従来、PA2 の特異化には神経堤細胞だけでは不十分で、その周辺組織 (内胚葉・外胚葉・コア中胚葉) における *Hoxa2* の発現も重要であると考えられてきたが、今回の結果はそれに反して PA2 の特異化には *Hoxa2* が神経堤細胞に発現するだけで十分であることを示すことが出来た。
3. 今回の実験により、1. に示した通り神経堤細胞における *Hoxa2* の異所性の発現により PA1 の低形成とホメオティック変異という一見して矛盾するような結果が同時に得られた。この 2 種類の表現型は PA1 に遊走する神経堤細胞の由来に相関している。PA1 の遠位部には中脳後部の神経堤細胞が充填するが、この領域は *Hoxa2* により低形成を起こすだけでホメオティック変異は観察されない。他方で PA1 の近位部には菱脳節由来の神経堤細胞が充填してきて、その領域は PA2 様の形態に置き換わる。このことは先行する *Hoxa2* のノックアウトマウスの表現型と整合的である。以上のことから、*Hox* コードの書き換え実験によりホメオティック変異を起こす性質は、PA1 の近位部に遊走する菱脳節由来の神経堤細胞に限定的に付与されている性質と考えられる。
4. 咽頭弓の腹側特異化因子である *Dlx5/6* とその上流にある *Edn1* や *Ednra* のノックアウトマウスにおいて茎状突起 (哺乳類特異的な PA2 由来の構造) の遠位部のみが選択的に欠損する。また逆に、*Edn1* の過剰発現による上顎 (PA1 の背側要素) の下顎 (PA1 の腹側要素) 化の結果、茎状突起の近位部のみが選択的に欠損することが分かった。上記の *Hoxa2* 過剰発現マウスにおいて、メッケル軟骨とツチ骨 (ともに PA1 の腹側要素) が茎状突起の遠位部の構造にホメオティック変異することが分かった。このことは茎状突起と下顎要素が系列相同であることを示し、咽頭弓の腹側領域が茎状突起の発生に関与することを示唆する。以上のことを総合すると、哺乳類の茎状突起には、従来考えら

れていた PA2 の背側要素（進化的には舌顎軟骨）だけでなく腹側要素（角舌軟骨）も関与していることを意味する。

5. マウスとニワトリにおいて腹側化因子である *Edn1-Dlx5/6* 経路の阻害実験を行うと、マウスにおいては鼓膜が欠失し、ニワトリにおいては重複するという真逆の表現型が誘導された。さらにマウスの中耳は *Gsc* の発現とカップリングしているがニワトリのそれはカップリングしないということが観察された。以上のことから、哺乳類においては鼓膜は下顎、双弓類（現生の爬虫類と鳥類）においては上顎という別の領域に発生することが明らかになった。
6. 1次顎関節と第1咽頭嚢（PP1）の位置関係をマウスとニワトリにおいて比較すると、PP1は両者でほぼ同じ領域に形成されるが、マウスの1次顎関節の位置がニワトリのそれよりも背側（PP1の近傍）に発生してくることが分かった。5. で示した鼓膜の張り方の違いはこの位置関係の相違がもたらす。

以上、本論文はマウスの咽頭弓において、*Hox* や *Dlx* 遺伝子の解析を行いそれらが領域を特異化する機構を明らかにし、さらに形態学的重要な位置を占めていた哺乳類の茎状突起と鼓膜の進化発生学的由来を解明した。このことは、脊椎動物において最も複雑化と多様化が著しい顎顔面の進化を従来に無かったレベルで明らかにするものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。