

# 論文審査の結果の要旨

氏名 古屋 美和

線虫 *C. elegans* はゲノムが完読された、発生生物学の重要なモデル材料である。学位申請者古屋美和は、線虫における *eyes absent / Eya* ファミリー遺伝子に注目し、その発生過程における機能を研究した。学位論文では、「序」、11節からなる「材料と方法」、5節からなる「結果」、「考察と展望」、そして「結論」に分けて、得られた成果とその意義が述べられている。

*Eya* ファミリー遺伝子は、脊椎動物や節足動物の様々な器官形成に必須な転写制御因子である。ショウジョウバエの複眼形成過程において、*eyes absent* は転写因子 *eyeless/Pax6* の下流で発現誘導され、複数の転写因子と物理的に相互作用することが示されている。*eyes absent* の関わる分子経路は、ショウジョウバエの他の器官形成過程や哺乳類の *Eya* ファミリー遺伝子の関わる器官形成過程において、類似性をもつことが明らかになっている。しかし一方で、*Eya* ファミリー遺伝子がどのような分子機構により複数の器官形成に関与するか、その機能の器官特異性には依然不明な点が多い。

申請者は、これまで機能未知であった線虫の *Eya* ファミリー相同遺伝子 *eya-1* の役割と、*eya-1* の関わる分子経路を明らかにすることを目的に以下の実験を行った。まず遺伝子欠損変異およびRNAiによる *eya-1* の機能破壊表現型を解析した結果、胚発生後期における頭部と咽頭の形態異常、および高温条件下での過剰な細胞死、幼虫期初期における高い浸透度での発生停止、孵化後発生過程における体の形態や複数の器官形成異常、を見出した。つぎに *eya-1* 遺伝子欠損変異体の胚発生過程を詳しく解析し、頭部の形態異常は形態形成期初期から生じていることを明らかにした。また、体壁筋細胞および咽頭筋細胞を標識して観察し、体壁筋細胞の移動が正常でないこと、咽頭筋細胞の形態が野生型と異なることを示唆する結果を得た。細胞死の表現型をさらに解析するため、*eya-1* 遺伝子欠損変異体とプログラム細胞死が起こらない変異体の二重変異体を作成した。この株では細胞死が抑制されたことから、過剰な細胞死はプログラム細胞死の遺伝学的経路に依存していることが分かった。しかし、細胞死を抑制し

ても胚発生期の形態異常は抑制されず、細胞死は形態異常の直接の原因でないと結論づけた。機能を保持した *eya-1::gfp* レポーターを用いて遺伝子産物 EYA-1 の発現解析をした結果、器官分化が起こる胚発生後期に、体壁筋細胞および咽頭細胞の一部を含む、頭側の複数の細胞核に局在が認められた。 *eya-1* 遺伝子欠損変異体の異常が現れる時期と合わせると、 *eya-1* は頭部の器官や組織において細胞が分化する過程に機能すると考えられた。 *eya-1* 遺伝子欠損変異体の孵化後発生過程における異常の一部は、RNAi によって孵化後に *eya-1* の機能を阻害した場合にも引き起こされた。したがって、 *eya-1* は胚発生期と孵化後の発生過程のそれぞれに機能をもつと申請者は結論づけた。

申請者はさらに、線虫における *eyeless/Pax6* の相同遺伝子 *pax-6* と *eya-1* との遺伝学的関係を調べている。 *pax-6* の機能完全欠失変異体は、高浸透度での孵化後の致死性と、 *eya-1* とは異なった頭部形態異常を示すが、この個体において *eya-1* 遺伝子の機能を RNAi によって低下させたところ、胚発生期の頭部形態異常と孵化後の致死性が顕著に強まった。したがって線虫の *eya-1* は、胚の頭部形態形成過程および孵化後の発生過程において *pax-6* と独立した機能、および部分的に重複した機能を持つことが示唆された。線虫のタンパク間相互作用を網羅的に解析した報告によると、EYA-1 に結合するタンパク質は多数存在し、そのうち 16 個は PAX-6 とも結合する。EYA-1 と PAX-6 の重複した機能は、共通の結合タンパク質を介する可能性があり、また EYA-1 は、PAX-6 と結合しないタンパク質に働きかけることで、PAX-6 と独立の機能を果たす可能性が考察された。

以上、古屋美和は線虫における Eya ファミリー遺伝子である *eya-1* が複数の器官や組織の分化に重要な役割をもつこと、また一部の組織では *pax-6* と協調的に機能することを明らかにした。本研究の成果は、線虫の発生生物学、特に細胞の分化と器官の形成機構の理解に対する重要な寄与であり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は杉本亜砂子、門田裕志、Andrew D. Chisholm 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、古屋美和に博士（理学）の学位を授与できると認める。