

論文審査の結果の要旨

氏名 阿南 圭一

本論文は4章からなり、第1章はイントロダクションであり、研究の目的と背景が述べられている。第2章は本研究でもちいた材料と方法が詳述されている。第3章は本研究によって得られた結果が、第4章では結果の考察が述べられている。

近年、蛋白質において反復構造をとるアミノ酸配列（単一アミノ酸反復配列）が注目されている。とりわけアラニン残基だけが多数連続する配列であるポリアラニンリピートは病理学的にも関心が高い。ポリアラニンリピートの獲得や喪失などのアミノ酸配列上の進化が生物の形質進化に関連しているかどうかの手がかりを探るために本論文では転写因子 *Hoxd-13* について研究を行っている。*Hoxd-13* 蛋白質はおもに四肢や外生殖器の形態形成を司っている転写因子である。先行研究から哺乳類の *Hoxd-13* はポリアラニンリピートを有することがわかっていた。またこの蛋白質はポリアラニンリピートの異常な増大によりヒトおよびマウスの遺伝性疾患を引き起こし、多指合指症という手掌部および足距部の形成不全の原因となる。脊椎動物 *Hoxd-13* におけるアミノ酸配列の比較解析を行った結果、哺乳類、鳥類などの羊膜類において *Hoxd-13* はポリアラニンリピートを獲得していたが、魚類、両生類においてはポリアラニンリピートを有しないことがわかった。そこで、羊膜 *Hoxd-13* に特徴的なポリアラニンリピートの生物学的意味、特に表現型における影響を検討するために、ジーンターゲットングにより、ポリアラニンリピートコード領域を欠失変異させた *Hoxd-13* (*Hoxd-13^{ΔA}*) をもつマウスを作出している。これはマウス *Hoxd-13* においてポリアラニンリピートの喪失という進化上の現象を人工的に引き起こしたものと言える。*Hoxd-13^{ΔA}* 変異マウスと野生型と形態学的比較をおこなった結果、指骨と中手骨との間に存在する sesamoid bone の骨の形態とその発生頻度に有意な違いを見いだした。上肢の親指の sesamoid bone では一つの指に二つあるタイプと一つしかないタイプが存在するが、*Hoxd-13^{ΔA}* 変異マウスでは、野生型と比較して一つしかないタイプがあらわれる割合が有意に高かった。次に、二つあるタイプと一つしかないタイプの内部構造の違いを、micro CT 解析によって解析している。一つしかないタイプの骨の内部には2つの髓腔構造が見られた。髓腔は一つの骨の一つと考えられるので、一つしかないタイプは二つあるタイプが融合して生まれたことを示している。また、二つあるタイプと一つしかないタイプの出

現頻度は、変異型ホモ個体、変異型ヘテロ個体、野生型、と順になっており、変異型対立遺伝子の量的効果の存在も示唆された。

本研究はポリアラニンリピートの獲得喪失による影響評価をモデル動物により実験的に検証した画期的な研究である。特に、たった一ヶ所のポリアラニンリピートの欠失だけで表現型へ影響を与えることを示した、知る限り、世界で最初の報告である。哺乳類の *Hoxd-13* 蛋白質には哺乳類に特徴的なポリアラニンリピートが複数箇所、存在している。したがって、これらすべての哺乳類特徴的なポリアラニンリピートを欠失させたならば、さらに大きな影響が表現型に現れることが期待できる。さらに、*Hoxd-13* 遺伝子とファミリーを形成し、同様に四肢の形成に深く関与している哺乳類の *Hoxa-13* 遺伝子や *Hoxd-11* 遺伝子も *Hoxd-13* 遺伝子と同様に哺乳類に特徴的なポリアラニンリピートを有しており、これらすべての遺伝子のすべての哺乳類に固有のポリアラニンリピートを欠失した場合に、極めて重大な影響を与えることがさらに期待されることが、本研究によって示された。

以上、本研究は様々な転写因子上に存在する「ある特定の生物種に固有な単一アミノ酸リピート」の生物学的な意味を世界に先駆けて実験的に検証したものであり、学問的意義は非常に高い。なお、本論文は植田信太郎、吉田進昭、片岡由紀、佐藤充治、市瀬広武、那須信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。

よって、博士（理学）の学位を授与できると認める。