

氏 名 弓削 主哉

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1099 号

学位授与の日付 平成 19 年 9 月 28 日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Evolutionary studies of sex-related genes in the mouse
brain

論文審査委員	主査教授	舘野 義男
	教授	城石 俊彦
	准教授	平田 たつみ
	顧問	宮田 隆（JT生命誌研究館）
	客員教授	長谷川 政美（国立遺伝学研究所）

論文内容の要旨

The brains of most vertebrates are known to exhibit hormonal, chemical and anatomical differences between males and females. However, molecular studies of sexual dimorphism in the vertebrate brains have not been well conducted. Moreover, the evolutionary process of sexual dimorphism in the vertebrate brains is almost unknown. Thus, it is of particular importance to identify the sexually dimorphic genes in the brains and to study the evolutionary process of those genes. In this thesis, I first studied the sexually dimorphic genes expressed in the mouse brain and investigated the evolutionary emergence time of those genes in order to reveal the evolutionary process of sexually dimorphic genes.

In Chapter 1, I described the outline of the present study, making special emphasis on the importance of evolutionary studies for sexually dimorphic genes in the vertebrate brains.

In Chapter 2, with the aim of elucidating the evolutionary process of sexual dimorphism in the brain at the molecular level, I conducted genomic comparisons of a set of genes expressed in a sexually different manner in the mouse brain with all genes derived from 26 eukaryotic species whose complete genome sequences are available. In practice, first, I collected seventeen protein-coding genes whose levels of mRNA expression in the brain differed between male and female mice according to the currently available microarray data. I then designated these genes operationally as “sex-related genes in the mouse brain”. Next, I estimated the time when these sex-related genes in the mouse brain emerged in the evolutionary process of eukaryotes by examining the presence or absence of the orthologues in all the eukaryotic species studied here. As a result, I found that ten sex-related genes in the mouse brain emerged after the divergence of urochordates and mammals whereas the other seven sex-related genes in the mouse brain emerged before the divergence of urochordates and mammals. In particular, five out of the ten sex-related genes in the mouse brain emerged just before the appearance of bony fish which were known to have phenotypic sexual dimorphism in the brain. Interestingly, three of these five sex-related genes that emerged during this period were classified into a functional category of the “protein binding”. Moreover, all of these three genes were expected to have the functions that are related to cell-cell communications in the brain according to the gene expression patterns and/or functional informations of these genes. These findings suggest that the orthologues of the sex-related genes in the mouse brain that emerged just before the divergence of bony fish might have essential roles such as forming protein-protein interactions in the evolution of the sexual dimorphism in the brain.

In Chapter 3, I focused upon brain region-specificities of sexually dimorphic genes in the mouse and their evolutionary processes. Vertebrate brains generally exhibit anatomical, biochemical and hormonal differences between males and females, and it is easily speculated that the genes manifesting sex-related features in a brain is different among brain regions because distinct brain regions have developed their specific functions at different evolutionary periods. However, little is known whether there are any differences in sex-related features among different brain regions of vertebrates from the evolutionary point of view. To investigate the differences of sexually dimorphic genes among brain regions of the mouse, I conducted comparative analysis of gene expression patterns between male and female mice. Microarray analyses of 18,538 transcripts of mice revealed 41, 44, 11 and 339 sexually dimorphic genes expressed in a preoptic area (POA), a hypothalamus (HY), an olfactory bulb (OB) and a pituitary (PIT), respectively. Among all sexually

dimorphic genes in each brain region, the dimorphic genes that are expressed exclusively in a particular brain region are defined as “brain region-specific dimorphic genes”. In fact, the proportion of a brain-region specific dimorphic genes was 87.8% in the POA, 86.4% in the HY, 81.8% in the OB and 98.5% in the PIT. Thus, it suggests that the gene expression with sexually dimorphic characters exhibits a regional specificity in the mouse brain. Next, to investigate the differences of dimorphic gene expression among the four brain regions during the evolutionary process, orthologues of the sexually dimorphic genes of each brain region were collected and compared with their evolutionary emergence time. Consequently, I found that the evolutionary emergence time of orthologues of these sexual dimorphic genes for each of the brain regions has varied with brain regions of the mouse. In fact, for the POA and the PIT, the brain region-specific dimorphic genes that emerged during early vertebrates in the evolutionary process were the most abundant among different evolutionary periods. On the other hand, the HY-specific dimorphic genes that emerged just before the divergence of nematodes in the evolutionary process were the most abundant among different evolutionary periods. These results suggest that the differences of gene expression patterns of sexually dimorphic genes among different brain regions might have evolutionarily developed their brain region-specificities.

In Chapter 4, I concluded that the orthologues of the sex-related genes in the mouse brain which emerged just before the divergence of bony fish might have essential roles in the evolution of the sexual dimorphism in the brain by forming protein-protein interactions. Furthermore, I showed that the sexually dimorphic genes among 4 brain regions differ in their evolutionary process and these differences might be important for the development of the brain region-specificities. Finally, I emphasized that the present approach for utilizing a large set of gene expression data and gene gain and loss information is useful to understand the correlation of sex-related feature and the molecular evolution of sexually dimorphic genes in the vertebrate brain.

論文の審査結果の要旨

弓削主哉君の学位論文は、第1章：序論、第2章：マウス脳で発現している性関連遺伝子の進化起源、第3章：マウス脳において性的二型発現を示す遺伝子の領域特異性とその進化的意味、終章：結論、と構成されている。

第1章は、論文内容の概要である。特に、脊椎動物の脳で発現が性的二型を示している遺伝子の進化的研究の重要性を強調している。

第2章では、脳の分子レベルでの性的二型の進化を解明すべく、弓削君はマウス脳で性的二型の発現様式を示す遺伝子のオーソログを、全ゲノム配列が分かっている26種の真核生物から収集し、比較検討した。実際の手順としてまず、彼は、雄と雌のマウスの脳で発現の異なる17のタンパク質コーディング遺伝子をマイクロアレイデータから収集して、「マウス脳・性関連遺伝子」と定義した。次に、これらの遺伝子のオーソログが存在するかどうか、前出の26種について検証し、マウス脳・性関連遺伝子の進化的起源を探った。その結果、17遺伝子の中10遺伝子はホヤなどの尾索類と哺乳類の分岐以後に出現し、残り7遺伝子は分岐以前に出現したことが分かった。特に、10遺伝子の中5遺伝子は、形態的に性的二型を示す硬骨魚の分岐直前に出現したことが突き止められた。この中3遺伝子はタンパク質結合遺伝子に属する。さらに、遺伝子発現様式や遺伝子機能情報を調べたところ、この3遺伝子は脳での細胞間情報伝達に関与していることが分かった。これらの結果は、硬骨魚分岐直前に出現した遺伝子のオーソログは、脳の性的二型への進化過程で、タンパク質間相互作用の形成など重要な役割を演じていたことを示唆する。

第3章では、マウス脳で領域特異的に性的二型発現を示す遺伝子の同定とそれらの進化過程について論じている。マウス脳は進化過程で形態別、機能別に領域分化してきているので、領域ごとに遺伝子発現が性的二型化していることが考えられる。しかし、進化的視点からは、このような性的二型化についてはよく分かっていなかった。そこで弓削君は、マウス脳の視索前野、視床下部、嗅球、脳下垂体のそれぞれの領域で発現している遺伝子の雌雄間比較を行った。まず、彼は、マイクロアレイ実験を行い、得られた18,538の転写産物の中、これら4領域で性的二型発現を示している遺伝子をそれぞれ、41, 44, 11, 339個抽出し、それらを性的二型発現遺伝子と定義した。また、4領域中1領域のみで性的二型発現をしている遺伝子の割合は、それぞれ、87.8%、86.4%、81.8%そして98.5%であることを突き止めた。つまり、遺伝子の発現が領域特異的に性差を示していることを見出したのである。次に、第2章と同じように、これらの遺伝子の進化解析を行った結果、それぞれの遺伝子の進化過程は脳領域によって異なることが分かった。視索前野と脳下垂体で発現されている遺伝子の多くは脊椎動物の進化の初期段階に出現し、視床下部で発現されている遺伝子の多くは線虫の進化起源の直前に現れたことが示唆された。このことは、脳における性的二型発現遺伝子の領域特異性は、進化の異なった段階で出現した遺伝子によって実現されたことを示している。

終章で、弓削君は、硬骨魚の進化起源の直前に出現した、脳内・性的二型発現遺伝子のオーソログは、タンパク質間相互作用を形成しながら脳の性差の進化に寄与してきた、と結論している。そして、最後に、遺伝子発現と遺伝子の進化的な得失に関する大量なデータによって初めて上記研究が可能であることを強調している。

弓削君の学位論文は、1) マウス脳における遺伝子発現の性的二型が実際に存在することを示したこと、2) 他の脊椎動物のオーソログとの比較研究を行い、脳内・性的二型発現を示す遺伝子の進化起源と過程について新たな知見を得たこと、3) マイクロアレイ実験で得られたオリジナルデータに基づいて、マウス脳の4つの異なった領域で固有に発現している遺伝子を同定したこと、そして4)他の脊椎動物のオーソログとの比較によって、脳で領域特異的且つ性的二型の発現様式を示す遺伝子の進化起源と進化過程へと議論を発展させたこと、という点で独創性と進化学的意義をもっていると判断できる。また、研究結果の一部を国際誌に発表することによっても評価を得ている。これらの点を評価し、審査員一同、弓削君の学位論文は、総合研究大学院大学の学位論文に相応しいと判断し、合格とした。