

氏 名 金慧琳

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1178 号

学位授与の日付 平成 20 年 3 月 19 日

学位授与の要件 先導科学研究科 生命体科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Molecular evolutionary and population genetic analysis
of mental activity-related genes in humans

論文審査委員 主 査 准教授 大田 竜也
教授 颯田 葉子
教授 長谷川 真理子
教授 徳永 勝士（東京大学）

論文内容の要旨

The aim of this thesis is to understand the human evolution, in particular mental activity of humans, and I have focused on the genes related to sphingolipid (SL) metabolism. SL regulates neuronal developments by involving signal transduction. The genetic disorder of SL metabolism (Lipid storage disease) shows typical symptoms of mental retardation and dysfunction of nervous system. In the process of the acquisition of human specific mental activity, the genes related to SL metabolism are likely to play important roles and to be candidate genes on which positive Darwinian selection operated.

To identify target genes selected positively, the long range-haplotype test applied to eight genes associated with the Lipid storage disease using the HapMap data. The test shows that a particular haplotype of the *N-acylsphingosine amidohydrolase (ASAH1; Acid ceramidase)* gene maintained stronger and longer linkage disequilibrium (LD) than neutral data obtained by simulations. Positive selection results in spread of a selected variant in a population so rapidly that recombination does not have enough time to decay LD of the variant. Thus the result suggests that positive selection might have operated on the evolution of *ASAH1*.

To examine the evolution of *ASAH1* in the human population, I determined nucleotide sequences (~ 11 kb) of *ASAH1* from a world-wide sample of 60 chromosomes. In the strong LD region (SL region; ~ 4.4 kb) of the sequenced region, I found that two allelic lineages (V and M) have been maintained for 2.4 ± 0.4 million years (my) in the

human population. Computer simulations suggest that the long persistence of the allelic lineages is likely to be attributed to population structure of humans in Africa before the Pleistocene period. The genetic diversity and TMRCA of the other loci is compatible with this demographic history revealed by *ASAH1*. Therefore, it is speculated that each lineage has persisted in each subpopulation in Africa and an admixture of two lineages was occurred by occasion of the dispersal of modern humans from Africa.

In addition, signatures of positive Darwinian selection for haplotypes belonging to the V lineage have been detected from the pattern and level of polymorphism of two lineages. The haplotypes of the V lineage with predominance (62%) have exhibited small nucleotide diversity ($\pi = 0.05\%$), recent TMRCA (200 ~ 340 thousand years) and strong LD in the SL region. The diversity is significant smaller in the SL region than the other region but this reduction of diversity is not shown in haplotypes of the M lineage. These observations are consistent with the rapid expansion of the haplotypes of the V lineage by positive selection. For the V lineage, I found that Val at M72V sharing in the lineage is human specific in primates, suggesting that this Val could be a likely target of positive selection. Null variation at 659 bp region surrounding this Val in the V lineage is also consistent with this positive selection. Computer simulations assuming the ancestral population-structure confirm that the observed small nucleotide diversity of the V lineage is not accounted for by neutrality. From the above observations, it is argued that positive selection has been operated on the V lineage against to the M lineage since the out of Africa of modern humans. This finding supports the archeological evidence of that the emergence of behavioral modernity of humans was concordant with the dispersal of modern humans.

Moreover, the subject of the study was expanded to not only *ASAH1* but also four genes possessing the domain of ceramidase activity. Phylogenetic analyses show that the origin of three kinds of ceramidase (acid, neutral, and alkaline) is prior to the split of vertebrates and invertebrates. The amino acid sequences of five genes have been highly conserved in each gene, which are consistent with the reported functional differentiation among ceramidase in the pathway of ceramides metabolism. Further, I found that two *N-acylsphingosine amidohydrolase 2 (ASAH2)* paralogs (*ASAH2B* and *ASAH2C*) are human specific. Interestingly, a previous study shows the transcription of *ASAH2B* in brain and significant decreasing of transcripts in brain of the Alzheimer's disease patients. This report has suggested a role of *ASAH2B* in brain and should be attractive target of further study of the human evolution.

In this thesis, I reveal the demographic history of human populations, the possible recent positive selection on *ASAH1*, and presence of human specific genes, *ASAH2B* and *ASAH2C*. It is crucial for elucidation of the human evolution that the comprehension of demographic history leading to modern humans and the human specific evolution of mental activity associated genes.

論文の審査結果の要旨

ヒトの起源やその進化は多くの人々が関心をもつ問題であり数多くの生物学者が研究を続けてきた課題である。中でもヒトの高度の脳機能・精神活動は他の生物とは大きく異なるもので、その進化過程を明らかにすることはヒトの進化を研究するに一つの重要な鍵となる。様々なタンパクが脳機能・精神活動に関係していることが知られているが候補となる全ての遺伝子の変化を機能解析することは事実上難しく、分子進化学あるいは集団遺伝学の観点から遺伝子解析を行いヒトの進化過程で自然選択の対象となった遺伝子を見出すことが一つの実質的なアプローチであると考えられる。その中でスフィンゴ脂質の遺伝的な代謝異常は知能障害を引き起こし脳や神経の活動に強く関与していることから、その代謝に関する遺伝子がヒトの進化に重要な役割を果たした可能性がある。

本論文ではこのようなスフィンゴ脂質の代謝に関する遺伝子に焦点をあて、主にヒトの進化過程での分子進化を研究し次の結果を得ている。1) スフィンゴ脂質の代謝に関する八個の遺伝子について公開されているヒトの多型データを用い連鎖不平衡の状態を解析することで、ヒトの進化過程において *ASAH1* (N-AcylSphingosine AmidoHydrolase) が“正の自然選択”の対象となった可能性のあることを見出した。2) ヒトの *ASAH1* 遺伝子について 60 染色体の塩基配列を決定し系統解析を行い、ヒトのハプロタイプが大きく二つの系統に区別され、それらの分岐年代が 200-280 万年と比較的古いことを示した。3) 様々なヒトの進化モデルに基づいてコンピューター・シミュレーションを行い、*ASAH1* 遺伝子での観察値を説明できるモデルは過去（更新世）にヒトの集団が分集団化しその後再び一集団となったモデルであることを示した。4) ヒトの *ASAH1* 遺伝子の二つの系統に属するハプロタイプで観察された遺伝子頻度と各々の系統内でのハプロタイプ間の遺伝的な差異（塩基多様度）を説明するには単なる中立的な分子進化では十分でなく、正の自然選択を仮定したモデルで説明できることを示した。以上の結果を総合し、ヒトの *ASAH1* 遺伝子の一つの系統での突然変異で生じた対立遺伝子が自然選択上有利でその遺伝子頻度を急速に増してきたこと、その一方短期間での進化のため強い連鎖不平衡が残り現在に至っていること、頻度の高いハプロタイプ群に特異的にみられる Val72 が他の霊長類には観察されず自然選択の対象となった可能性が高いことを結論した。さらに 5) *ASAH* 遺伝子族について系統解析を行い、5つの異なるグループの *ASAH* 遺伝子が脊椎動物の出現以前に分化していること、また *ASAH2* の遺伝子重複および一部の協調進化がヒトとチンパンジーの系統の分岐後に生じヒト特異的であることも明らかにし、これらの遺伝子が今後の研究対象として有望であることを示唆した。

以上の論文は、ヒトの進化を解明するにあたり一つの重要な遺伝子の存在を明らかにしたものであり、提起された進化モデルは今後の研究で精査の対象となりえるものと判断された。これらの点から本論文の研究成果は新規的であり学術的に高い価値をもつと評価された。