

【目的】 脳の形態学的・機能的な違いは遺伝的に98%の相同性を示すヒト・サルでも明らかであり、実験動物として汎用されるマウスも、殆どの遺伝子セットを共通に利用しているが、独特な神経系を獲得している。したがって、マウス神経系解析の医療応用には、この難題に対処することが必須となる。タンパクになれないノンコーディング RNA (ncRNA) セットは種間多様度が極めて高いことから、ほ乳類脳の種特異性成立メカニズムにおいては、種特異的な ncRNA が機能することが想定できる。実際に最近、5種5組織の計25サンプルの大規模比較トランスクリプトーム解析を行い、種特異的プロモーターncRNA (pancRNA) を進化的に獲得すると、特定の細胞群でのみ遺伝子発現を達成できることを発見していた (Uesaka et al., BMC Genomics, 2017)。pancRNA は研究代表者らが発見した長鎖 ncRNA (lncRNA) であり、下流遺伝子のエピジェネティクスを活性型に変換し下流遺伝子を特異的に発現上昇させることのできる ncRNA である。種を超えて保存されていない配列の獲得が、種特異的 ncRNA 産生/エピジェネティック変換を介して、遺伝子発現スイッチの獲得に至ると考え、本課題ではマウスとヒトの脳神経幹細胞における種特異的 pancRNA を有する遺伝子を網羅的にデータベース化し、機能的意義を明らかにすることとした。

【方法】 イルミナ社の HiSeq2500 と HiSeqX により、pancRNA と mRNA 発現情報を取得した。pancRNA がヒトにありマウスにない遺伝子として、*MEIS1*、*UCP2*、*NRSN2*、*CD63* を選択し、ヒト神経幹細胞におけるノックダウン (KD) 実験と *in utero* エレクトロポレーションによるマウス脳への賦与実験を行った。

【結果】 ほ乳類脳の未分化期は代謝経路として解糖系が優位である一方、分化後は酸化リン酸化を用いる代謝リプログラミングが起こる。ヒトとマウスでは大脳皮質の機能や形態が大きく異なり、種差形成には代謝リプログラミング経路の適応が伴っていることが想定される。そこで、ヒト特異的 pancRNA 駆動型遺伝子として同定できたミトコンドリア内膜のタンパク質 Mitochondrial uncoupling protein 2 (*UCP2*) について、ヒト神経幹細胞における KD によりマウス型遺伝子発現を模倣する解析を行った。ヒト iPS 細胞由来の神経幹細胞株 AF22 を用いた EdU の取り込み実験と active Caspase3 抗体染色から、*UCP2* あるいは *pancRNA* を KD すると、いずれも細胞増殖の有意な抑制と細胞死の増加傾向が認められ、この結果は KD サンプルの RNA-seq データにも支持された。反対に、子宮内エレクトロポレーションによるマウス胎仔脳へのマウス *Ucp2* 過剰発現から神経幹・前駆細胞の増加傾向が認められた。同様に、例えば、エクソソーム膜で機能することが知られるヒト特異的 pancRNA 駆動型遺伝子 *CD63* について、マウス大脳発生中の神経幹細胞においてヒト型発現を模倣すると、大脳新皮質の層構造のうち、深層ニューロン (*Ctip2*⁺) の数は変化させずに、浅層ニューロン (*Satb2*⁺) の数が増大し、さらに、マウスではみられないはずのしわの原基のような構造が、改変当時神経幹細胞だったニューロンにより構築された (下図)。したがって、*pancRNA* 獲得に伴うこれらの遺伝子の発現量種差は、大脳神経幹細胞増殖変化を介して表現型の差異形成に寄与してきたことが強く示唆された。

ヒト特異的 pancRNA を有する遺伝子 *CD63* の強制発現によるマウス大脳の拡大

