

氏名(本籍)	栗田喜久(福岡県)			
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博甲第5705号			
学位授与年月日	平成23年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Evolution of the Molluscan Bodyplan Brought by the Alteration of Early Developmental Process (初期発生プロセスの変更によってもたらされた軟体動物ボディプランの進化)			
主査	筑波大学教授	博士(理学)	和田洋	
副査	筑波大学教授	理学博士	町田龍一郎	
副査	筑波大学准教授	理学博士	齊藤康典	
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	本多正尚	

論文の内容の要旨

近年、さまざまなモデル動物においてゲノムが解読され、その発生や形態形成に関する分子的基盤が解明された。さらにこの知見は、動物に多様な形態進化をもたらした発生学的変更の多くが、転写因子やシス領域の変異による遺伝子の発現パターンの変化であることを明らかにした。しかしながら、これらのモデル動物は左右相称動物を構成する3グループのうち、新口動物と脱皮動物に偏っており、最大の分類群である冠輪動物における発生学的知見は極めて乏しく、このことが動物界全体の形態進化を議論する上での大きな障壁となっている。

軟体動物門は冠輪動物最大のグループであり、その多くが形態・枚数など多様性に富んだ石灰質の貝殻または骨片を有する。また、多様な殻形態に対応するように筋肉の種類や形態が発達しており、この殻と筋肉の形態が軟体動物の重要な分類形質となっている。一方で、軟体動物の初期発生は極めて保存的であり、直接発生を行う種をのぞく多くの軟体動物が、らせん卵割を行いトロコフォア幼生に至る。しかしながら、トロコフォア幼生期にはすでに各分類群に特異的な殻形態や筋肉形態が形成されていることから、軟体動物の形態に多様性をもたらした発生プロセスの変更は、この保存的な初期発生過程に生じていると考えられる。そこで本研究では、軟体動物のボディプランに革新をもたらした発生学的変更の解明を目的とし、比較発生学的手法を用いて研究を行った。まず、殻が1枚の軟体動物であるカサガイと、2枚の殻とその殻を閉じるための閉殻筋を獲得した二枚貝の初期発生パターンを比較し、殻と筋肉の形態進化をもたらした発生パターンの変化を解析した。さらに腹足綱に、軟体動物の中でも特に顕著な左右非対称性をもたらしたとされる新奇の発生パターン“Torsion”の発生学的基盤の解明を試みた。

二枚貝ムラサキインコガイの卵割パターンを観察した結果、2d割球(二枚貝ではXと呼ばれる)が、二枚貝特異的な不等分裂を4度行った後、左右相称分裂を行った。この分裂によって生じた2つのX(XLとXR)に蛍光色素を注入し、発生運命を追跡した結果、左右のXがそれぞれ、貝殻分泌腺の右半分と左半分へと分化していた。このことは二枚貝特異的なXの卵割パターンの獲得によって2枚の貝殻がもたらさ

れたことを示唆する。

一方で、左右相称分裂前の X に蛍光色素を注入したところ、貝殻腺の正中領域に X 由来ではない細胞が移入していることが示された。先行研究において、この領域には分泌因子 *dpp* を発現する細胞が移入している可能性が示唆されており、本研究の結果はこの仮説を支持するものである。さらにこの領域は将来 2 枚の殻を隔てる蝶番を形成する領域であることから、*dpp* もまた 2 枚の殻の形成にかかわっている可能性がある。そこで Morpholino oligo の顕微注入による *dpp* の翻訳阻害実験を試みた結果、*dpp* 阻害胚では蝶番を構成する細胞が失われ、円形の貝殻腺が形成された。この結果は、二枚貝の *dpp* が蝶番の形成を引き起こし、2 枚の殻の形成に関与していることを示唆する。

以上の結果から、二枚貝の 2 枚の殻は①殻始原細胞 X の卵割パターンの変更、および② *dpp* による 蝶番の形成、という 2 つの発生パターンの変更によってもたらされたと考えられる。

二枚貝ムラサキインコガイの初期発生において、中胚葉が筋肉へと分化する過程を、中胚葉および筋肉のマーカー遺伝子 (*muscle actin*, *twist*, *vasa*) の発現から追跡し、二枚貝特有の筋肉である閉殻筋がいつどのように形成されるのかを観察した。結果、二枚貝幼生の体を殻に引き付ける牽引筋は前方中胚葉由来であることが明らかになった。さらにこの牽引筋へと分化する前方中胚葉の一部が背側へと分離し、閉殻筋に分化する様子が確認された。そこで、この中胚葉細胞の分離を引き起こすシグナルを探索したところ、*hedgehog* 遺伝子が中胚葉の分離される領域の近傍で発現していることが観察された。以上の結果から、二枚貝特異的な *hedgehog* の発現によって、既存の牽引筋へと分化していた中胚葉から、閉殻筋へと分化する新奇の中胚葉細胞塊の分離が引き起こされている可能性が示唆された。

腹足類の特徴的な発生パターンとして、頭部と足部が内臓塊および殻に対して 180° ねじれる Torsion という現象が知られている。このねじれは腹足類の体制に顕著な左右非対称性をもたらした新奇の発生パターンであると考えられており、100 年以上にわたりその原因についての研究がなされてきたが、いまだ解明されていない。本研究では Torsion を引き起こすメカニズムを明らかにするため、Torsion 中のカサガイ幼生における細胞分裂活性を計測した。その結果、幼生の足の基部において左右非対称な細胞分裂活性が観察された。巻貝の左右性の決定に関与しているとされる Nodal シグナル経路を、薬剤を用いて阻害した結果、足基部における左右非対称な細胞増殖も Torsion も生じなかった。以上の結果から、腹足類の Torsion は Nodal シグナルによって引き起こされる足基部での左右非対称な細胞増殖によってもたらされたことを示唆する。

審査の結果の要旨

進化発生学の隆盛により、多細胞動物の形態進化の背景がかなり明らかになりつつある。その中で冠輪動物群は最も研究の立ち後れた分類群であり、その中でも軟体動物二枚貝にいたっては、100 年以上研究の進展が止まっている状態であった。そのなかで、著者は二枚貝における発生的な手法を確立し、二枚貝特有の体制進化に関して、重要な知見をもたらした。まさに、100 年の暗闇を突き破った研究は快挙とも言えるものであり、審査会でも高く評価された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。