

氏名（本籍）	古賀 皓之 （ 福岡県 ）		
学位の種類	博 士（ 理学 ）		
学位記番号	博 甲 第 6905 号		
学位授与年月日	平成26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	EvoDevo Research on the Acquisition of Larval Skeleton in Echinoderms (棘皮動物の幼生骨片獲得に関する進化発生学的研究)		
主査	筑波大学教授	博士（理学）	和田 洋
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	本多 正尚
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	笹倉 靖徳
副査	筑波大学准教授	博士（生命科学）	谷口 俊介

## 論 文 の 要 旨

進化発生学の主な目的は、生物がいかにしてからだ作りのプロセス（発生）を改変し、多様な形態を作り出してきたかを明らかにすることである。古くから生物進化は、塩基配列の改変と、そうした変異の集団遺伝学的推移の過程として理解されてきた。しかし様々な研究から、いま生物界に見られる多種多様な形態の起源は多くが古く、かつ複雑な発生過程をへて作られることが明らかになっている。そのため、従来の進化概念と、進化発生学が導きだす発生過程の変更による形態進化とが、いかに結びつけられ得るかは、いまだに十分な説明がない問題である。著者はこうした問題に取り組むべく、棘皮動物の幼生を材料に、これまでの進化発生学の定石である比較発生学的解析からさらに一步踏み込んで、より実証的なアプローチを盛り込んだ研究を展開してきた。

棘皮動物はウニ、ヒトデ、ナマコ、クモヒトデなどを含む動物門である。彼は間接発生で、プランクトン性の幼生をもち、その幼生形態は大きくプルテウス型とオーリクラリア型の2つに分けることができる。両者の大きな違いは、プルテウスが幼生骨片に支えられた長い腕をもつことであり、それによって一瞥してわかるほど顕著な形態の違いが生み出されている。棘皮動物の姉妹群である半索動物や、現生棘皮動物の最基部で分岐したウミユリがオーリクラリア様の幼生を持つことから、プルテウス型の幼生はオーリクラリア型の幼生から派生的に生じたと考えられている。著者は、プルテウス形態の進化に関わる重要なイベントである、幼生骨片の獲得メカニズムを明らかにすべく研究を行った。

まず、骨片が無いヒトデ幼生において、ウニの骨片形成に関わる遺伝子のオーソログがどのように発現しているかわ調べたところ、ヒトデでも、ウニ同様、中胚葉で多くの骨片形成転写因子が発現することがわかった。そのうちの1つの転写因子 *Ets1/2* は、ヒトデの遺伝子をウニで発現させても機能することから、機能的保存性もあることを示した。これは、幼生骨片の形成に関わる転写因子群は元々、幼生の中胚葉形成に関わっていたことを示唆する。しかし、その中で転写因子 *Alx1* は、ヒトデの初期幼生では発現していなかった。*Alx1* はウニでは幼生骨片に不可欠な因子であり、同じく骨片を持つクモヒトデやナマコの幼生、そしてヒトデの成体でも骨片特異的に発現していた。したがって、幼生骨片の獲得には、*alx1* 遺伝子の幼生期発現が必要であったことが示唆された。また、近年所属研究室の研究により、外胚葉からの VEGF シグナルも同様の発現パターンを示すことも明らかになった。以上の結果から、棘皮動物の幼生が骨片を獲得するためには、少なくとも2つの要素、*Alx1* と VEGF シグナルの幼生期への発現移行が必要であったことが示唆された。

さらに、進化の過程で起こったであろう変化の再現を試みるべく、*Alx1* の発現と VEGF シグナルの活性化

を、それぞれ、または同時に、ヒトデ胚に誘導した。しかし、幼生骨片を形成することはなかった。これは、この2因子の幼生期発現だけでは形態進化を引き起こすのに不十分であったことを示す。ところが、いずれの場合も胚は外形上ほぼ正常に発生した。発生に影響がなかったという事実は、この変化は、適応的には少なくとも中立でありうるということを示唆する。

さて、外形には影響は見られなくとも、どちらも転写調節への役割が知られる因子だけに、遺伝子発現への影響が予想できた。しかしイトマキヒトデにはゲノム情報も、骨片形成の先行研究もなく、影響されうる遺伝子の候補はわかっていなかった。そこで、次世代シーケンサーを用いて、Alx1 発現胚のトランスクリプトーム解析を行い、対照胚と比べ発現量が変化している遺伝子を網羅的に調べた。その結果 Alx1 発現胚では、24 の遺伝子が有意に発現変動しており、発現上昇した遺伝子の中には、ウニで骨片形成への関与が示されている機能未知遺伝子 *p16* や *p19* に類似性を示す遺伝子が含まれていた。変動遺伝子の発現パターン解析を行ったところ、*p16* と *p19* はヒトデでも骨片形成に特異的な働きをもつことが示唆された。したがって、Alx1 の幼生期発現によって、外形上の表現型は変わらないものの、わずかながら遺伝子発現の変化が認められ、その中には幼生骨片獲得の進化のステップとみられる発現変動が起きることがわかった。しかもそのステップは単に Alx1 のみによって引き起こされている訳ではなく、元々ヒトデ胚に発現している他の骨片形成転写因子オーソログとの協調によって起こることも示唆された。これは Alx1 が胚全体に発現している強制発現胚において、*p19* 遺伝子が中胚葉だけで活性化されたことに見てとれる。

本研究から、棘皮動物における幼生骨片の獲得は、Alx1 や VEGF シグナル、加えて未知の因子と、複数の因子が幼生期に働くことで起こったであろうことがわかった。このように複数の変化によって初めて適応的となる形質を、複合適応形質といい、複合適応形質がどうやって進化しうるかは、ゲノムの変化と表現型の変化のギャップを埋め得る重大な問題である。しかし、本研究では進化の再現を通してこの問題を解決する一例を示す事ができた。本例で扱った転写因子は、幼生期に発現させても形態的な影響はほぼなかったが、網羅的な発現解析により、骨片形成遺伝子を含むわずかな遺伝子発現の変動を起こすことがわかった。つまり、幼生骨片を作るために必要な各変化は、単一では発生システムのもつ頑健性によって外形上の影響は抑えられ、適応的にはほぼ中立でありうることを示唆する。そのため、集団内に保持され、他の因子の変異を「待つ」ことができたのであろう。一方で、遺伝子発現のレベルでは着実に骨片形成に向けた発現の変化が起きていた。したがって、複合適応形質の進化とは、各要素が必ずしも同時に満たされたものではなく、むしろ、変化が集団内に保持され、そうした変化が有性生殖を通して統合していくことにより、外形上は突如として、適応的な形質が現れるものと考えられる。本研究で、これまで理論仮説として考えられていたこの説に対し、それが可能であることを実証的に示すことができた。

## 審 査 の 要 旨

小さな変異の積み重ねが、新規形態を生み出してきたとする現代の進化生物学において、実験的に進化を再現するという試みは、非常に大きな意味をもつ。特に、一見適応的ではないとも考えられる進化の中間段階を経ないと獲得できないような形態的特徴の進化は、ダーウィンによる「種の起源」の発表以来、進化生物学が克服しなくてはならない、大きな課題であった。この問題に、棘皮動物の幼生骨片進化を題材にして取り組んだ、意欲的な研究であると高く評価された。また、次世代シーケンサーをもちいた進化の中間段階の再現は、独創性も高く、画期的な成果であると評価された。

平成26年1月30日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。