

氏名（本籍）	橋本 直樹		
学位の種類	博 士（ 理 学 ）		
学位記番号	博 甲 第	7321	号
学位授与年月日	平成 25 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	Evo-Devo Researches on the Novelities of Molluscs (軟体動物の新奇形質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	筑波大学教授	博士（理学）	本多 正尚
副査	筑波大学教授	博士（理学）	笹倉 靖徳
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	千葉 親文

論 文 の 要 旨

生物は単純な球形の卵から発生するにもかかわらず、成体の形態は豊かな多様性を示す。このような形態的多様性の多くは相同な形質の発生過程を徐々に改変することによって生み出されてきたと考えられる。一方で生物は進化の過程で、他の系統には全く見られない新しい形質を獲得している。このような形質は分類群を特徴づける形質として多くの現生種に引き継がれていることから、新奇形質は生物の多様性の源であるといえる。新奇形質の獲得はどのように発生を改変することで達成されたのだろうか。本研究では、軟体動物が獲得した 2 つの新奇形質、腹足類の蓋と二枚貝類の 2 枚の貝殻の獲得メカニズムを明らかにすることを目的とした。

蓋は腹足類の新奇形質である。特定の腺細胞から分泌され、螺旋状に成長するなど、蓋は軟体動物の原始形質である貝殻と多くの類似点をもつ。これらから貝殻と蓋の間には進化的な関連性が存在すると考え、蓋と貝殻の発生を比較解析することで、蓋獲得メカニズムについて考察した。

組織学的観察の結果、蓋腺は円柱状の大型の細胞で、その形態はトロコフォア幼生の貝殻腺に類似することが分かった。次に *in situ hybridization* 法を用いて、トロコフォア幼生の貝殻腺で発現する遺伝子の発現解析を、蓋腺を形成する時期であるベリジャー幼生において行った。その結果、*dpp*、*grainyhead*、*ferritin* が蓋腺でも発現していることが分かった。RNAi 法を用いて *dpp* の機能解析実験を行った。*dpp* の発現を抑制すると膜状の貝殻が形成された一方で、蓋基質の分泌は全く見られなかった。また阻害胚を用いて遺伝子発現解析を行った結果、*dpp* は貝殻腺、蓋腺の両方で *grainyhead* の発現を制御していることが明らかとなった。

以上の結果は、腹足類の貝殻と蓋は二枚貝の左右それぞれに対応するという古い仮説を支持している。しかし貝殻腺と蓋腺の共通点が複数存在する一方で、貝殻腺と蓋腺の発生起源が異なること、貝殻腺のみで発現する遺伝子が存在することなどいくつかの相違点も観察された。これらを踏まえると、蓋の獲得について以下の進化仮説が考えられる。つまり、背側で貝殻形成に関与していた遺伝子ネットワークのうち、*dpp-grainyhead* 経路が足の後方に使い回されることで新奇形質蓋が獲得された、というものである。

二枚貝類は 2 枚の貝殻をもつグループで、1 枚の貝殻をもつ祖先から進化したと考えられている。そして二枚貝類の 2 枚の貝殻獲得は卵割パターンの変更によってもたらされたことが示唆されている。軟体動物の

初期発生は螺旋卵割によって進行し、貝殻腺は主に 2d 割球に由来する。二枚貝ではこの 2d (= X)割球が螺旋卵割の規則から外れ、特殊な卵割パターンを示す。分裂回数に応じて不等卵割の極性が変化するという特徴的な 4 回の不等分裂を行った後、最も大きな割球が左右相称に分裂する。これによって生まれた 2 つの割球が左右それぞれの貝殻腺に分化する。本研究では、二枚貝類の形態進理解の第一歩として、この特徴的な卵割が自律的に制御されているのか、それとも外因性因子によって制御されているのか明らかにすることを目的とした。

4 細胞期の D 割球を単離し、その後の分裂パターンを観察した。その結果、8%の割球が正常胚と同様の特徴的な卵割パターンを示した。これ以外のすべての単離割球は途中で分裂を停止し、正常胚と異なる卵割パターンを示したものはなかった。また単離した D 割球に由来する幼生は貝殻腺を有していた。

以上の結果から D 割球は自律的に自身のユニークな卵割パターンをコントロールし、他の割球系譜の細胞との細胞間相互作用なしに貝殻腺に分化することが示唆された。また単離割球においても分裂回数に応じた不等分裂の極性の逆転が見られた。このことから二枚貝の D 割球は自身の分裂回数を数える機構を持つことが示唆された。つまり発生のタイミングを司るシステムの研究モデルとして二枚貝の卵割が使用できると考えられる。

動物の発生は単一の細胞である受精卵が分裂を繰り返すことで進行する。つまり、生物のかたちづくりは異なる性質を持つ細胞を生み出す過程であり、祖先とは異なる細胞タイプを作り出すことによって新奇形質が獲得されるといえる。ひとつは、特定の細胞タイプ形成に関与していた遺伝子経路が、別の細胞タイプに使い回されることで祖先には存在しなかった細胞タイプが獲得されたことを示した。さらに、二枚貝の特徴的な卵割に着目することで、互いに異なる 2 つの娘細胞を形成する仕組みが細胞自身に内包されていることを示した。遺伝子発現パターンの進化的変更の原因の多くはシス領域の配列変化で説明されている。しかし実際には新奇に発現する遺伝子のシス領域の改変と、そのシス領域と相互作用する分子の分布が細胞タイプごとに異なる必要がある。このような分子の分布の相違の根本的な原因は細胞分裂時の細胞質の不等分配によると考えられる。二枚貝の X 割球は特徴的な卵割を自律的に制御していたことから、細胞質の不等分配メカニズムのモデルとして特に有用であると考えられる。今後、軟体動物の形態形成について細胞生物学および分子発生学的視点から詳細に研究していくことで、卵細胞という単一の細胞から多様な形を作り出すメカニズム解明に向けた重要な知見が得られるであろう。

審 査 の 要 旨

進化発生学において、最も研究の立ち後れている冠輪動物の軟体動物を用いて、新奇形態進化の発生的な背景を明らかにした。腹足類の蓋は、二枚貝の一方の殻の起源と考えられた時期すらあったが、明確にその進化プロセスを明らかにした点は高く評価できる。また、らせん卵割様式を改変したことで、進化したと考えられる二枚貝について、卵割様式の制御機構の一端を明らかにしたことで、細胞分裂様式の改変が、形態進化の原動力になったというユニークな現象を明らかにした。以上2つの成果は、独創性も高く、画期的な成果であると評価された。

平成27年2月3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。