

氏名	鈴木 大地
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	博 甲 第 7529 号
学位授与年月日	平成 27年 7月 24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	On the Evolutionary Origin of the Vertebrate Visual System: Insights from the Comparative Researches on the Visual Development of the Lamprey and Amphioxus (脊椎動物視覚系の進化的起源：ヤツメウナギおよびナメクジウオの視覚 形成の比較研究)

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	理学博士	古久保-徳永克男
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	千葉 親文

論 文 の 要 旨

外界を映像として捉える視覚（像形成視）の獲得は、脊椎動物にとって、捕食者としての体制や高度な脳機能の進化を伴う重要な進化的イベントであった。像形成視の実現には、眼から脳に情報を伝える視神経や、その情報を受け取る脳の視覚中枢、そして中枢からの出力を伝える運動系の神経回路が統合的に機能しなければならない。さらには、実際に運動を行う器官とも連動する必要がある。特に眼を動かす外眼筋は、視覚が効果的に機能するためには無くてはならない。そして、これらの要素のほとんどは軟組織であり、化石からはごくわずかな情報しか得られない。そこで現生動物の発生過程を比較する進化発生学的手法が必要となる。現生の脊索動物を比較すると、原索動物のホヤやナメクジウオは眼点様の単純な光受容器をもつものに対し、脊椎動物は（視覚が退化的な種を除き）すべてカメラ眼をもつ。現生の脊椎動物のなかで最も原始的な形態をとどめているヤツメウナギも成体においてはカメラ眼をもつが、より原索動物と共通した（祖先的な）特徴を残す幼生期では、眼点様の未発達な眼しかもたない。

そこで本研究ではこのような特徴的な視覚形成をみせるヤツメウナギの視覚形成を調べ、ナメクジウオや顎口類と比較することで視覚系の進化過程を推測しようと試みた。

軸索誘導分子である *Eph* は、像形成視形成に重要な役割を果たす。網膜と視蓋で勾配をもって発現することで、濃度によって網膜と視蓋（視覚中枢）の部位ごとを対応させ、それに従って視神経の軸索を誘導する。これによって視神経の網膜での細胞体の位置と視蓋での投射位置が対応し、網膜に写った像を視覚中枢へ伝達することができる。そこでヤツメウナギの初期幼生期（発生期）と後期幼生期（変態直前期）において *in situ hybridization* 法による *Eph* の発現解析を行った。その結果、後期幼生期（変態直前期）の網膜において、*EphB* が背腹に、*EphC* が前後に勾配をもって発現しており、顎口類と類似した発現パターンを示した。一方で初期幼生期（発生期）においてはそのような発現パターンは見られず、網膜や視蓋全体に広く発現するか、全く発現しないかのどちらかであった。ヤツメウナギ成体においては顎口類と同様、視神経の位置特異的な網膜視蓋投射が存在していること、また網膜から中脳視蓋への視神経投射は後期幼生以降にしか見られないことが先行

研究によって明らかとなっている。今回の結果と合わせて考えると、網膜から中脳視蓋への位置特異性をもった視神経の投射は、後期幼生期（変態直前期）に形成され、それは顎口類と同様、*Eph* の発現勾配による軸索誘導で実現されることが考えられる。一方で初期幼生では *Eph* の発現も独特なパターンを示したことから、初期幼生の視覚系は成体や顎口類のものとは大きく異なっていることが予想される。

次に、成体や顎口類のものとは大きく異なっていることが予想される初期幼生の視覚系の神経構造を明らかにするため、神経トレース実験、免疫組織化学による神経細胞の可視化、*in situ hybridization* 法による前脳パターンニング遺伝子 *Pax6* の発現解析を、ヤツメウナギ初期幼生とナメクジウオについて行った。神経トレース実験および *Pax6* の発現解析の結果、初期幼生の視神経は中脳視蓋ではなく間脳の視蓋前域と呼ばれる領域に投射していることがわかった。さらに神経軸索の二重トレース実験の結果、初期視神経の少なくとも一部は一次運動ニューロンである内側縦束ニューロンに直接シナプス結合していることが推測された。またナメクジウオ免疫組織化学による神経細胞の可視化および *Pax6* の発現解析から、ナメクジウオの視覚中枢は *Pax6* が発現する前脳相当領域であることがわかった。以上の結果は、ナメクジウオの視覚中枢とヤツメウナギ初期視覚中枢がともに前脳相当領域内に存在していることを示しており、ヤツメウナギ初期視覚系が祖先的な視覚系を反映している可能性を支持する。

ヤツメウナギ成体の外眼筋の筋配置や神経支配は顎口類のものとは異なっており、外眼筋を含めた頭部中胚葉の進化を明らかにするために重要な形質だと考えられている。ヤツメウナギの外眼筋の発生メカニズムを明らかにするため、発生段階を追って外眼筋および支配神経の組織学的解析、また外眼筋発生に関わる遺伝子の発現解析を行った。発生期において外眼筋の筋組織は見られず、また筋形成関連遺伝子も発現していなかったが、頭部中胚葉のパターンニング遺伝子は顎口類と同様のパターンを示した。一方で3cmほどの幼生には既に外眼筋の筋組織が見られ、筋形成関連遺伝子も発現していた。また筋の配置および神経支配は成体のものとほぼ同一であり、幼生期から変態にかけて漸次に外眼筋が形成されていることがわかった。外眼筋発生関連遺伝子のカスケードが、ヤツメウナギと顎口類で保存されていたことから、脊椎動物の共通祖先で外眼筋発生メカニズムが既に確立していたと推測される。一方でヤツメウナギの漸次的な外眼筋形成過程は、ヤツメウナギの段階的な視覚形成と協調している。

以上の研究から、ヤツメウナギの段階的な視覚形成において、初期ではナメクジウオと類似した視覚系をもちながら、成体では顎口類と類似した視覚系に変化することがわかった。これはあたかも、原索動物から脊椎動物への進化を反復するかのようである。さらに視覚系だけでなく、内柱から甲状腺への変化、また変態期の脊椎の形成なども、反復的な形質である。変態期に視覚系を大きく改変し、生活型を変えるという戦略は、生態学的にも適応的だと思われる。反復説には例外も多いものの、場合によっては反復説的な発生過程を示すことを本研究は示したと言える。

審 査 の 要 旨

脊椎動物の像形成視の進化という、ダーウィンがその進化を理解することが非常に困難だと述べた現象に正面から取り組み、画期的な成果を上げた。幼生期には光受容のみを行い、変態期に像形成視を獲得するヤツメウナギを対象にして、網膜における2次元の位置情報を形成する仕組みが変態期に形成されること、像形成視を行わない幼生期の視神経がナメクジウオと同様に前脳相当領域に投射していることなどを明らかにした。また、眼を動かす外眼筋の形成過程についても明らかにするなど、脊椎動物の像形成視の進化の理解に大きな貢献をした。

平成27年5月22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。