

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	有 本 飛 鳥
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
Evolutionary developmental study on the regeneration of the hemichordate, <i>Ptychodera flava</i> (半索動物ヒメギボシムシ再生に関する進化発生学的研究)			
論文審査担当者			
主 査	准教授	田川 訓史	
審査委員	教 授	小原 政信	
審査委員	教 授	矢尾板 芳郎	
審査委員	教 授	山本 卓	
〔論文審査の要旨〕			
<p>半索動物ギボシムシは、我々ヒトを含む脊索動物やウニなどの棘皮動物と共に新口動物群に分類される海棲の無脊椎動物である。成体の体はゴカイやミミズのように細長い円筒状であり、前方から吻、襟、体幹部の 3 つの部分に分けられる。体の背側には、襟部に中空の神経索、体幹部に鰓裂があり、脊索動物との強い類縁関係を示す。一方で、初期発生の様式や幼生の形態などからは、棘皮動物との類縁関係が認められ、最近では分子系統学的解析から、棘皮動物門と半索動物門をまとめた水腔動物とよばれる分類群が復活している。このような特徴を示すギボシムシは、さらに旧口動物に匹敵するほど再生能が高い。</p> <p>申請者の研究室では、ヒメギボシムシの EST 解析やゲノム解析を進めており、発生に関わる遺伝子群を、これまで知見の蓄積してきた他のモデル生物と比較解析することが可能になってきた。</p> <p>申請者は、近年の進化発生学的研究により、様々な動物の系統間において発生の分子基盤が保存されているが、再生の分子基盤の保存性に関しては、余り研究が進んでいないことに着目した。異種の動物間における発生と再生の分子機構の比較は、その発生と再生でボディプランが大きく異なる場合が多いため、対応づけることが困難である。申請者は、間接発生を行い、その胚発生や幼生のボディプランと変態後の成体ボディプランが容易に対応づけられるだけでなく、再生過程のボディプランも対応付けが可能なヒメギボシムシについて、部位マーカー遺伝子を指標に、その発生における発現パターンと再生における発現パターンを比較解析した。</p> <p>遺伝子発現パターンの解析に際し、海産無脊椎動物を対象とした一般的な <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション法を用いると、変態期および成体組織において強い非特異的シグナルが検出され、染色が明瞭でなく、発現部位の特定がこれまでは、困難であった。そのため、申請者はヒメギボシムシを対象として <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション法の 15 のステップに関して条件最適化を行った。その結果、バックグラウンドノイズを明瞭に減少させ、特異的シグナルの検出感度を格段に上げる手法を確立させた。</p> <p>次に、申請者は、この手法を用いて、実際に遺伝子発現解析を行った。ヒメギボシムシ</p>			

の前方端マーカー遺伝子に関して、初期発生から変態後まで発現パターンを一貫して検証した報告はなされていない。そこで多くの動物の幼生において頂部で発現することが知られており、直接発生型のギボシムシにおいても幼若個体の前方端での発現が報告されている *hedgehog* に着目し、そのオーソログを単離し、発現パターンを各発生段階で調べた。その結果、幼生の形態がほぼ完成する後期原腸胚以降の発生段階で、頂部と咽頭に発現が認められた。また、その発現は孵化から 3 ヶ月以上経過した変態期においても維持されていることが明らかになった。これらの発現からヒメギボシムシにおいて *hedgehog* は、初期発生から成体まで一貫した前方端マーカー遺伝子と見なすことができる。続いて、再生過程において発現パターンを調べたところ、吻が再生してくる再生部位先端部、つまり幼生の頂部に対応する部位、での発現は認められなかった。しかしながら、口が再形成された後に、咽頭部において発現が認められた。これらの結果から、申請者は、*hedgehog* の発現は、発生と再生では異なるパターンを示すことを明らかにした。

Hedgehog の発現が、部位により発生と再生で異なることが分かったので、申請者は、前方構造である他の開口部のマーカー遺伝子についても、同様に初期発生と再生で異なる発現パターンを示すのか検証した。開口部のマーカー遺伝子としては、既に初期発生での発現パターンの報告がある *brachyury* や *foxA*、そして本研究で新たに明らかにした *gooseoid* を用いた。これら 3 つの遺伝子のうち、*gooseoid* ならびに *foxA* は初期発生と同様に再生時に口周辺での発現が検出されたが、*brachyury* のみこの領域での発現は再生時には認められないことを示した。

以上のことから、申請者は、ヒメギボシムシにおける前方構造の再生は、初期発生や変態時に用いられる発生の分子機構が単純に再駆動されて引き起こされるのではなく、再生特異的な機構によってもまた引き起こされる可能性を示した。

本研究は、ヒメギボシムシの発生過程と再生過程における分子基盤の共通性と相違性を調べる初めての研究であり、高く評価される。結果として、間接発生を行う動物の初期発生の分子基盤が、再生過程で再利用されているという単純な話ではなく、発生に関わる分子基盤プラス再生に特異的な分子基盤との共同作用で、再生における形態形成が進められていることが示唆された。これらの研究結果は、ギボシムシの再生機構の解明に迫る重要な知見をもたらすものと考えられる。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

1. *Hedgehog* expression during development and regeneration in the hemichordate, *Ptychodera flava*.
Asuka Arimoto, Kuni Tagawa.
Zoological Science, vol. 32. No. 1, pp. 33-37. 2015.

参考論文

1. A cDNA resource for gene expression studies of a hemichordate, *Ptychodera flava*.
Kuni Tagawa, Asuka Arimoto, Akane Sasaki, Mizuki Izumi, Satoko Fujita, Tom Humphreys, Asao Fujiyama, Hiroshi Kagoshima, Tadasu Shin-I, Yuji Kohara, Nori Satoh, and Takeshi Kawashima.
Zoological Science, vol. 31. No. 7, pp. 414-420. 2014.
2. Regeneration in the Hemichordate *Ptychodera flava*.
Tom Humphreys, Akane Sasaki, Gene Uenishi, Kekoa Tamparra, Asuka Arimoto, Kuni Tagawa.
Zoological Science, vol. 27. No. 2, pp. 91-5. 2010.