

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	Morov Arseniy Romanovich
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Origin of the chordate dorsal structure (脊索動物に特異的な背側構造の起源)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	安井 金也 (附属臨海実験所)	
審査委員	教 授	矢尾板 芳郎 (附属両生類研究施設)	
審査委員	教 授	千原 崇裕	
審査委員	准教授	鈴木 厚 (附属両生類研究施設)	
〔論文審査の要旨〕			
<p>脊索動物は、ナメクジウオからなる頭索動物、ホヤなどが含まれる尾索動物、そして、我々ヒトを含む脊椎動物によって構成される。脊索動物の体で最も顕著な特徴は、背側に発達する脊索と管状の中樞神経である。脊索動物に特異的なこれらの背側構造は、脊椎動物の進化に重大な影響を及ぼしたと考えられることから、長年、発生学及び比較形態学における最も重要な研究対象の一つであった。発生学的には、おもにホヤ及びアフリカツメガエルで、背腹軸の確立と背側の特異化に関わる分子機構と細胞動態の大方が明らかにされている。しかし、これまでの研究では、背側の特異化に関して、脊索動物ごとの機構とそれらに認められる共通性が探求されてきたが、脊索動物がどのようにして背側構造を獲得するに至ったかという進化的疑問は未解決であった。申請者は、頭索動物ナメクジウオの初期発生の研究によって、ナメクジウオにおける背側の特異化機構を明らかにするだけでなく、その機構を棘皮動物ウニの胚発生と比較することによって、脊索動物が背側構造を獲得した過程を知る極めて有力な示唆を得ることができた。</p> <p>ホヤと実験脊椎動物では、卵形成過程におけるmRNAなどの母性因子の卵内分布と、受精によるその分布の再構成が、体の基本構造確立に決定的な役割を担っていることが明らかにされている。そして、卵に精子が侵入する位置が、前後・背腹の胚軸の決定に影響する。ナメクジウオでも、精子の侵入点と卵内での移動経路はホヤやカエルの場合に似ていると指摘されていたが、受精卵の卵内動態や胚軸決定でそれらの動物との類似性が認められなかったことから、申請者は精子の侵入点とその後の動態を再度観察した。その結果、ナメクジウオの受精は、他の脊索動物で知られる卵の動物半球からの侵入ではなく、特異的な侵入部位が認められないウニの受精に似ていることが明らかになった。したがって、卵内での雄性前核(精子の核)も特定の移動経路をとらず、それによる母性因子の一貫した再構成は期待できないことが明らかになった。</p> <p>特徴が無い受精卵や初期胚での領域特異化を明らかにするための優れた方法は、遺伝子の発現解析である。ナメクジウオでは、最も早い配偶子発現をする遺伝子の一つとして<i>lefty</i> 遺伝子が知られていた。申請者はこの遺伝子を手がかりにして、初期胚の領域特異性を詳細に調べた。その結果、<i>lefty</i> の最初の発現が、母性因子である <i>nodal</i> mRNA によ</p>			

って制御されることを明らかにした。さらに、母性 *nodal* mRNA の分布は受精卵の表層細胞骨格の再構築と連動していることを明らかにした。*lefty* の発現領域は、胚の赤道に沿って発現する *wnt8* 遺伝子と比較することにより、胞胚の赤道を跨いで卵割期胚の片側にパッチ状に広がることが明らかになった。この領域ではその後、配偶子発現による Nodal シグナル伝達が働くようになり、その下流で *gooseoid*, *chordin*, *not-like*, *brachyury1* が活性化される。これらの遺伝子は脊椎動物の背側構造を誘導する遺伝子群である。ナメクジウオ胚の原口は *wnt8* が発現する赤道まで広がることから、原腸陥入の過程で *lefty/nodal* 発現領域は必然的に原口の片側に位置するようになる。その結果、その下流遺伝子の発現領域は、脊椎動物の相同遺伝子の発現領域と解剖学的的一致を見る。つまり、*lefty/nodal* 発現領域は脊椎動物の背側オーガナイザーと同じトポロジーを示す。Nodal シグナルが先の下流遺伝子群を実際に制御しているかどうかを知るために、Nodal シグナルを薬理的に抑制してその結果を調べた。*gooseoid*, *chordin*, *not-like*, *brachyury1* は、期待どおりに発現が抑制され、その結果、神経胚では脊索動物の基本構造である脊索と神経板が欠失することが明らかになった。さらに、この処理により、赤道に沿った *wnt8* の発現が植物極にずれ、原口が小さく、原腸が胚の外層から離れる変異を誘導した。

ナメクジウオの胞胚は、ウニ胞胚と同様、単層で球状の胞状胞胚である。胞胚での最初の *lefty* の発現とその Nodal シグナルとの関係は、ナメクジウオ胚では *nodal* が母性発現をして、ウニ胚では配偶子発現をする以外は、両者で極めてよく似ており、その発現部位も似ている。ウニ胚でも Nodal シグナルの下流では *gooseoid*, *chordin*, *not*, *brachyury* が発現して、それらの遺伝子は外胚葉で口の領域を誘導する。つまり、腹側に特異化する。

動物のほとんどを占める左右相称動物では、背腹が脊椎動物とそれ以外の動物で逆になっていることは古くから知られていた。このことは近年、分子生物学的に再確認され、脊索動物が含まれる新口動物内で、逆転が起こったことが示唆された。申請者の研究は、この問題についても、明快なデータを示すことができた。ナメクジウオ胚での背側特異化機構は、ウニ胚の口領域特異化機構に対応する分子機構を使っていることが明らかになった。つまり、ナメクジウオの背側は、ウニ胚に似た祖先の口側(腹側)に由来することを強く示唆する。両者の背腹関係は、背腹のマーカー遺伝子である *bmp2/4* と *chordin*、さらにはリン酸化 Smad1/5/8 による Bmp2/4 シグナル伝達の分布パターンを観察して、ナメクジウオとウニ胚で完全に逆転していることを明らかにした。本研究は、ゲノムレベルの分子系統解析が提唱する新口動物の系統関係とも一致する。

脊椎動物の背側構造の進化的起源の解明は、比較形態学、発生学が始まって以来の懸案であった。申請者は、その問題に対して、広い知識にもとづいた分子的根拠を持つ極めて強固な見解を提供することができた。

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

Morov AR, Ukizintambara T, Sabirov RM, Yasui K. (2016) Acquisition of the dorsal structures in chordate amphioxus. *Open Biology* 6 160062, DOI 10.1098/rsob.160062.

参考論文

1. Kaji T, Reimer JD, Morov AR, Kuratani S, Yasui K. (2016) Amphioxus mouth after dorso-ventral inversion. *Zoological Letters* 2, DOI 10.1186/s40851-016-0038-3.
2. Yasui K, Kaji T, Morov AR, Yonemura S. (2014) Development of oral and branchial muscles in lancelet larvae of *Branchiostoma japonicum*. *Journal of Morphology* 275, 465-477.