

論文審査の結果の要旨

氏名 北沢 千里

本論文は3章からなり、第1章は、直接発生型ウニのヨツアナカシパンの羊膜口左シフトによる左右非対称性の確立——祖先型発生様式の復活の可能性、第2章は、リチウムによるウニ幼生の左右性確立の攪乱、第3章はウニ幼生の成体原基形成方向の左右非対称性確立に対する小割球の影響について述べられている。

第1章では、直接発生型のヨツアナカシパンを用いて、初め左右非対称性の形態的マーカーの探索が行なわれた。成体原基の構成要素である羊膜陥は、間接発生型ウニでは、6腕幼生期に体の左側に形成されるが、ヨツアナカシパンでは、原腸胚期に、正中線上に形成され、左右非対称性のマーカーにならないと考えられていた。本研究の結果、SEM 観察により、初め正中線上に形成された羊膜陥の開口部（羊膜口）が、その後左側に移動することが発見された。次に、多くの動物種の体軸形成に影響をもたらすリチウムを用いて、リチウム処理されたヨツアナカシパン幼生の羊膜口の移動を、SEM により調べ、羊膜口の移動がリチウム処理により阻害されることを見出した。

第2章では、間接発生型ウニにおける左右非対称性のマーカーに対するリチウムの影響が調べられた。左右非対称性のマーカーとして、小小割球の左右体腔嚢への不等配分と成体原基形成方向とが知られている。間接発生型ウニは、小小割球の不等配分の様式により、2つのグループに分けられる。小小割球の配分比が左5:右3になる“variant type”(バフンウニなど)と、8:0になる“all-or-none type”(ハスノハカシパンとスカシカシパン)である。この研究では、初めに、“variant type”のバフンウニに対するリチウムの影響が調べられた。バフンウニの whole の胚に対するリチウムの影響を調べ、小小割球子孫細胞の配分比が、5:3 から 4:4 に変化し、成体原基を右側に形成する個体の増加することを発見した。64-256細胞期にリチウム処理を行うと、成体原基の左右性が最も攪乱されることから、リチウムにより攪乱可能な、成体原基形成方向の左右非対称性決定機構が、この時期に働いていることを推察した。この時期が、リチウムによる植物極化に感受性のある時期よりも遅いことから、リチウムが左右性に及ぼす効果と植物極化に及ぼす効果とが独立していると結論された。更に、予定外胚葉領域であるアニマルキャップを単離しリチウム存在下で飼育すると、成体原基を形成し、変態して正常なものと変わらない稚ウニを作りうることを初めて証明した。この様にして得られる幼生においては、約半数の個体が右原基あるいは両原基を形成し、リチウムが幼生の左右性をランダム化させる

た。“all-or-none type”のウニで行った同様な実験では、リチウムにより、左右非対称性が攪乱されなかったことから、“variant type”と“all-or-none type”のウニの間には、左右非対称性形成機構に違いのあることを結論した。

第3章では、左右軸に対する小割球の関与と、小割球に対するリチウムの影響が調べられた。バフンウニの16細胞期胚から小割球を完全に除去した約半数の幼生で、成体原基は右側に形成された。32、64細胞期に全小割球子孫細胞を除去しても、同様の結果が得られ、成体原基形成方向の決定には、64細胞期以後の小割球子孫細胞の存在が重要であることが示唆された。しかし、ハスノハカシパンでは、成体原基形成方向が逆転した個体の出現率は低く、“all-or-none type”と“variant type”のウニでは、小割球の左右性確立への機能に量的または質的な違いのあることが示唆された。

16細胞期に単離したバフンウニの4個の小割球を、一定時間リチウム処理を行った後に、別群の16細胞期胚から単離した正常アニマルキャップと結合させ、その後発生させて成体原基形成方向を調べたところ、未処理の小割球子孫細胞とアニマルキャップを結合させた胚由来の幼生は、基本的に左側に成体原基を形成したが、リチウム処理した実験胚の半数で、左右性異常が起こることを見出した。

これらの実験に基づき、以下の結論を得た。ウニ幼生の左右非対称な形質、特に成体原基形成方向は、間接発生と直接発生の発生様式の違いに関わらず、保存されている可能性がある。間接発生型の小割球子孫細胞は、正常発生における左右非対称性の形成中心として働く。“all-or-none type”では、小割球の役割が低下して中割球及び大割球の役割が発達している可能性がある。“variant type”の左右非対称性確立に影響する小割球シグナルは、リチウムにより攪乱され、このリチウムの効果は、植物極化の効果とは、直接的な因果関係を持たない。“all-or-none type”では、左右非対称性の確立に関する小割球の役割の低下に伴い、小割球の関与する左右非対称性確立機構のリチウム感受性も低下した結果、リチウムの左右非対称性の攪乱を受けないと考えられる。

なお、本論文第1章は、高井（梶原）薫氏・中島陽子博士・藤沢弘介博士及び雨宮昭南、また第2章、第3章は、雨宮昭南との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。