

# 論文審査の結果の要旨

氏名 飯島 実

本論文は2章からなり、第1章はウニ胚 *veg2* 割球の内胚葉誘導能、第2章は、直接発生型ウニ進化課程における内胚葉誘導カスケードの変化について述べられている。

ウニ胚において、細胞運命の決定や細胞分化に細胞間相互作用が機能していることが数多く報告されている。ウニ胚に典型的な発生様式は間接発生型と呼ばれ、成体への成長途中に、浮遊し採餌する幼生期間を経る。間接発生型ウニ16細胞期胚は、動物極側から中、大、小割球の3つの割球層から成る。小割球形成は現生棘皮動物5綱ではウニ綱にのみ見られ、その小割球には内胚葉誘導能があることが古くから知られている。このことは、小割球と予定内胚葉細胞もしくは予定原腸領域との間に細胞間相互作用が働いていることを意味している。ウニ胚の予定原腸領域は64細胞期の *veg2* 割球層全てと *veg1* 割球層の一部である。小割球の内胚葉誘導に関して、ひとつのモデル(Davidson's model)が提唱されている。このモデルの主張は次の2点である。1) 内胚葉誘導が小割球層から始まり、*veg2* 層、*veg1* 層へと伝わるカスケードである。2) 誘導カスケードの開始には卵割初期(16細胞期から64細胞期)の小割球層の誘導作用が重要である。しかし、Minokawa and Amemiya (1999)やIshizukaら(2001)は、ウニ胚正常発生過程において、卵割後期から胞胚後期に、小割球子孫細胞が内胚葉誘導能を発揮していることを示した。近年においては、分子的にも後期小割球シグナルを支持する報告がなされている。一方、ウニ胚には間接発生型以外に直接発生型なる発生様式が知られている。直接発生型ウニ胚は、幼生形質の一部または大部分を削除し、卵割後、直接的に成体へと変態する。系統的に直接発生型は間接発生型から独立に何度も派生したと考えられている。間接発生型と直接発生型との違いのひとつは卵割パターンである。一般的に直接発生型ウニ胚は小割球を形成しないため、間接発生型ウニ胚で知られる小割球を始点とした内胚葉誘導カスケードを直接発生型ウニ胚にそのまま適用することは不可能である。しかし、ヨツアナカシパン(*Peronella japonica*)というウニは、直接発生型では例外的に、16細胞期に小割球を形成する。このウニを用いることで、直接発生型における、小割球からの内胚葉誘導カスケードを調べるのが可能である。

本論文の研究は、間接発生型ウニ胚において、微細手術により、内胚葉誘導カスケード中の *veg2* 割球層が後期小割球シグナルを受ける場合と受け

ない場合とで、それぞれ発生のある時期に正常胚から *veg2* 割球層以下を除去し、残された部分胚の内胚葉分化を検討することで、正常発生過程における *veg2* 割球層の内胚葉誘導能と小割球シグナルとの関係を明らかにしている。その研究結果は、間接発生型ウニ胚の正常発生過程において内胚葉誘導カスケイドが段階的に進行していることを、初めて明らかにしたものであり、同時に後期小割球シグナルの存在を確固としたものである。また、直接発生型においては、微細手術により小割球除去胚や、小割球と予定外胚葉である動物半球との再構成胚を作成し、内胚葉分化を調べ、ウニ胚の発生様式の進化に伴って内胚葉誘導カスケイドにも進化的変化が起こった可能性を初めて報告したものである。

第1章において論文提出者は、間接発生型ウニ胚の内胚葉誘導カスケイドの一部である *veg2* 割球層に注目し、種によりもしくは割球数により *veg2* 割球層の内胚葉誘導能が異なることを示した。また、*veg2* 割球層がその上の割球層へと内胚葉誘導能を発揮するには、小割球層から後期小割球シグナルを受けることが非常に重要であることを初めて明らかにし、後期小割球シグナルが正常発生過程において内胚葉誘導に関与していることを支持した。第2章においては、直接発生型ヨツアナカシパンでは内胚葉誘導能が小割球で欠失している可能性と、しかし *veg2* 割球層では保存されていることを明らかにした。このことからヨツアナカシパンが直接発生型への進化過程における中間段階とみなすことができ、発生様式の変化に伴う内胚葉誘導カスケイドの進化的変化を初めて明らかにしている。

本論文に示された新知見は、間接発生型ウニ胚において論争となっていた重要な課題を解決していると同時に直接発生型においては新しい進化的な見解を出している。本研究に用いられたアプローチは適切であり、信頼できる技術によって裏付けされている。

なお、本論文第1章は、雨宮昭南氏との、第2章は、美濃川拓哉氏、石塚泰啓氏、雨宮昭南氏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なったもので、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）を授与できると認める。