

# 論文審査の結果の要旨

氏名 柴田 朋子

本論文は3章からなる。第1章は、全体の要旨である。第2章はニッポンウミシダの長期飼育法の開発について述べられている。第3章はニッポンウミシダの分節形成にかかわる遺伝子の解析について述べられている。

ウミユリ類は、棘皮動物の中で最も原始的なグループであり、棘皮動物、新口動物の進化を知る上で、重要な位置にある。しかし、飼育の困難性や、産卵期が不明な種が多いことなどから、個体発生に関する研究は遅れていた。柴田朋子は、ウミユリ類を実験動物として確立し、その個体発生を明らかにすることを旨とし、三崎臨海実験所の先行研究によって産卵期が特定されていたニッポンウミシダの長期飼育法の開発を試みた。水槽内に隔離した個体から放出された卵と精子を回収し、受精・発生させ、コンテナ内壁に着底した幼生を、コンテナごと海中に吊るし、海中に棲息するプランクトンを餌とした。その結果、受精卵から性成熟に至る飼育に世界で初めて成功し、発生過程の観察を可能にした。飼育法の確立は困難を極め、長時間を要したが、ウミユリ類の卵から性成熟までの飼育の成功は、棘皮動物および新口動物の進化の理解に大きく貢献すると期待される。

ニッポンウミシダは成長過程で腕の数を増やすことが知られていたが、その様式については不明であった。柴田朋子は自ら確立した長期飼育法を活用し、成長過程における腕の数が増える仕組みを観察し記述した。ニッポンウミシダの幼体は、中央の萼部から最初に生じる5本の腕を基部近くで自切して捨て、2本の新しい腕を分岐再生させて、これを繰り返して腕数を増やすことを明らかにした。本研究では、再生が腕の個体発生の過程で重要な役割を果たしていることを示した。

1960年にDan & Kubotaのより報告された1937年-1955年の三崎におけるニッポンウミシダの放精・放卵の時期に比べ、柴田朋子が調査した2000年-2006年の間は、放精・放卵の時期が約半月遅くなっていることを示した。三崎臨海実験所による海水温の記録を過去に遡って比較することにより、海水温が近年では有意に上昇していることと、秋口から低下し始める海水温が22℃を下回ることが放精・放卵が起こる目安とされている先行研究(久保田1988)の情報から、9月、10月の海水温が上昇し、水温低下が遅くなったために、ウミシダの放精・放卵に遅れが生じたと考えられる。三崎臨海実験所における長期の記録を利用し、環境変化と生殖時期の変化を指摘した点は意義深い。以上は、第2

章に記述されている。

第 3 章では、確立した飼育系を利用し、ニッポンウミシダの分節構造形成過程の解析を行っている。一般に脊索動物、節足動物、環形動物の三門が分節構造を持つ動物とされており、棘皮動物の分節構造についてはほとんど検討されなかった。ウミユリ類は、その腕と茎に明らかな分節構造を持つ。すなわち、ほぼ同じ形をした多数の小さな骨板が、腕の場合は筋肉および靭帯で、茎の場合は靭帯で関節されている。

組織学的観察により、ウミシダの腕の分節構造は、他の動物門のように、未分化な組織が一節ずつくびり切れてから分化が起こるのではなく、先端部でまず骨片形成、次に靭帯形成、そして筋肉形成と組織分化が順次起こることで分節構造が形成されることを明らかにした。また、新口動物における分節化の分子メカニズムの保存性を検証するために、脊椎動物の体節形成に関与する *Notch* および *Hes* 遺伝子のウミシダにおける相同遺伝子を単離し、*in situ hybridization* による発現解析を行った。その結果、分節構造形成初期には両遺伝子とも腕での発現が見られなかったが、再生腕においては、分節構造形成後期に *OjHes* の縞状の発現が見られ、縞の間隔は分節の幅と対応していた。以上は、棘皮動物の分節構造形成においても、脊椎動物と一部は共通の分子メカニズムが用いられていること示唆している。しかし、脊椎動物を含む脊索動物と、棘皮動物との共通祖先は分節構造を持たなかったと考えられることから、それぞれのグループに分岐した後、独立に共通のメカニズムを獲得したと考えられることを示した。

この研究を通じて、柴田朋子は、ウミシダ幼体・成体を用いた分子生物学実験の基本的な手法を確立した。特に幼体の *in situ hybridization* による遺伝子発現解析は、世界で初めて成功したものである。飼育系・実験系を確立し、これまで研究が困難であったウミユリ類を実験動物として用いる可能性を開いた研究として、高く評価できる。

なお、本論文第 2 章は、大路樹生、佐藤敦子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）の学位を授与できると認める。