

# 論文内容の要旨

論文題目 : **Anterior-posterior axis formation and nervous system development in crinoids; implications for evolution of the echinoderm bodyplan.**

(祖先型棘皮動物ウミユリ類の前後軸および神経系の進化に関する研究)

氏 名 大森 紹仁

棘皮動物は幼生では左右相称、成体では五放射相称の形態を示す新口動物の一群である。幼生、成体ともに明確な頭部構造をもたず体の前後軸も不明瞭であるため、その体制が左右相称動物からどのように進化して獲得されたのかについては大いに議論の余地が残されている。

進化発生学の研究においては、棘皮動物の代表として主にウニが用いられてきており、後生動物で広く機能が保存されている中枢神経系や感覚器官の形成にかかわる遺伝子はウニのゲノムにも存在することが明らかになっている。しかし、ウニの起源は比較的新しく、派生的である。

棘皮動物の一種であるウミユリ類は、神経節を含む反口側神経系をもつなど、現生棘皮動物の中で最も祖先的な形態的特徴を示す(図1)。これらの形態的特徴はウミユリ類以外の棘皮動物(ウニやヒトデ)では進化の過程で失われているため、ウミユリ類の研究は棘皮動物を含めた新口動物の形態の進化を研究する上で不可欠といえる。しかし、飼育や産卵誘起が困難であるなどの理由により、ウミユリ類を用いた進化発生学的な研究は限定的であった。私は中枢神経系や感覚器官の形成にかかわる遺伝子のウミユリ類における発現パターンを解析し、他の新口動物と比較することにより、棘皮動物の体制が新口動物の共通祖先からどのように進化したかについての重要な知見が得られると考え、有柄ウミユリ類トリノアシ(*Metacrinus rotundus*)、およびウミシダ類ニッポンウミシダ(*Oxycomanthus japonicus*)の2種のウミユリ類を用いて、以下の研究を行った。

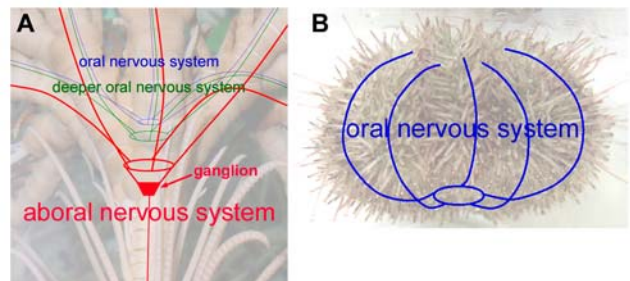


図1 : ウミユリ類 (A) とウニ (B) の神経系の比較。ウニでは神経節(ganglion)を含む反口側神経系(aboral nervous system)が失われている。

1. 私は浮遊幼生における色素の沈着が少なく、遺伝子発現パターンを解析しやすいトリノアシを最初の研究対象とした。トリノアシは水深 150m ほどに生息するため、採集および飼育が困難であり、産卵・発生させた例も少なかったため、まず初めに産卵誘起刺激の探索と発生条件、飼育環境の検討を行った。その結果、成熟個体に適当な物理的刺激を加えることによってトリノアシの産卵を誘起することに世界で初めて成功した。また、発生に用いる容器や海水を最適化することにより、これまでにわずか数例しか知られていなかった有柄ウミユリ類の開口幼生を多数得ることに成功した (図 2)。

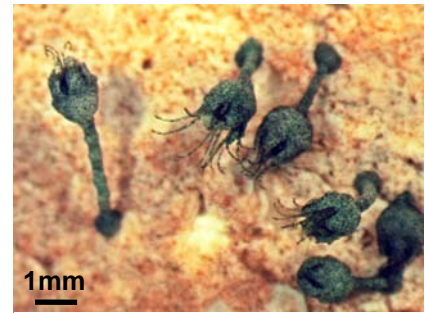


図 2 : 本研究によって得られたトリノアシ開口幼生

2. トリノアシにおける遺伝子発現解析の手法に改良を加え、脊椎動物では頭部神経系の前後領域化に関わるホメオボックス遺伝子である *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現解析を行った。その結果、これらの遺伝子がトリノアシ浮遊幼生において内中胚葉前方で前後軸に沿って並んだ発現パターンを示すことを見出した。また、先行研究によるトリノアシ *Hox* 遺伝子群の発現パターンとこれらの遺伝子の発現パターンの比較により、*Six3*, *Pax6*, *Otx*, および *Hox* 遺伝子群がトリノアシ浮遊幼生において内中胚葉全体の前後領域化に関わることを示した (図 3)。この結果は、これらの遺伝子の神経系の領域化に関する機能が棘皮動物幼生では大きく改変されていることを示唆する。なお、このように *Six3*, *Pax6*, *Otx*, および *Hox* 遺伝子群が胚葉全体の領域化に関わる例は、ウニやヒトデでは報告されていない。

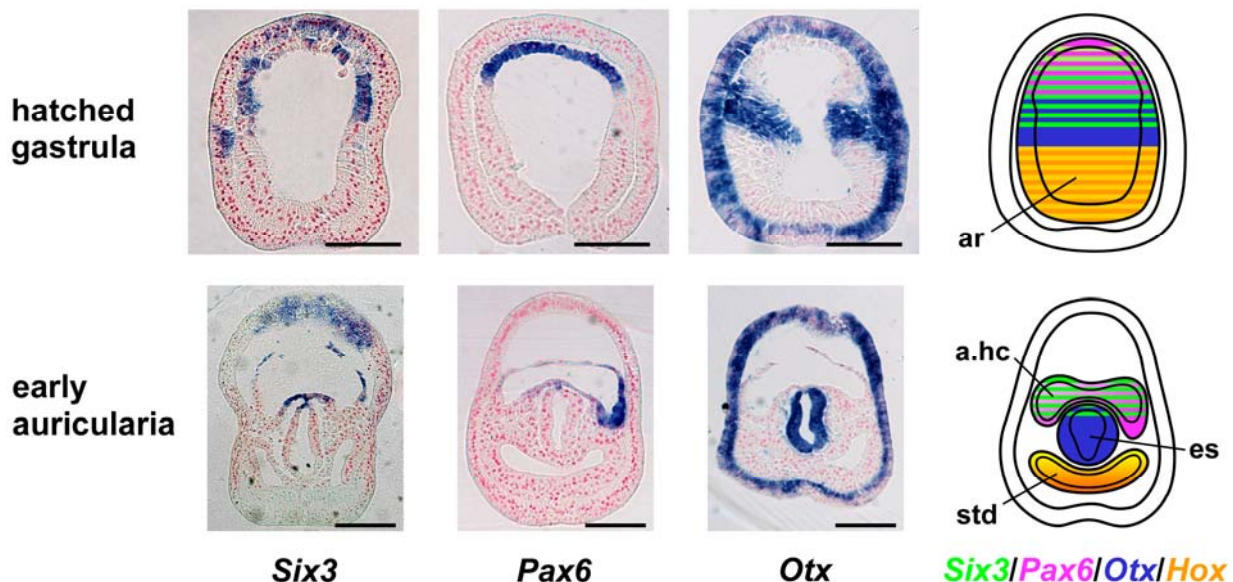


図 3 : トリノアシ浮遊幼生における *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現。Whole-mount *in situ* hybridization により遺伝子発現部位を可視化した後、切片を作成し、Nuclear Fast Red による対染色を施して観察した。右列の図は本研究で解析した遺伝子、および先行研究によるトリノアシ *Hox* 遺伝子の、各発生段階における発現パターンを模式化したものである。原腸の前方から中間付近で *Six3*、前方で *Pax6*、中間付近で *Otx* が発現し、*Pax6* と *Otx* の発現部位がそれぞれ軸水腔と腸囊に分化するため、これらの遺伝子は内胚葉の前後領域化に関わると考えられる。ar: 原腸, a.hc: 軸水腔, es: 腸囊, sc: 体腔. scale: 100  $\mu$ m.

3. トリノアシでは開口幼生以降の発生に成功していないため、成体神経系についての解析ができない。一方、ニッポンウミシダは発生を通して色素の沈着が多く、遺伝子発現パターンの解析が難しいが、当研究室の先行研究により成体までの飼育に成功している。そこで、私はニッポンウミシダを用いて成体神経系について解析するために発現解析の手法を開発した。*Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現解析を行った結果、ニッポンウミシダ座着幼生と幼体においてこれらの遺伝子がウニやヒトデなどにも存在する管足や口側神経系で発現することを確認した。一方、ウミユリ類のみがもつ祖先的形質の反口側神経系では *Pax6* と *Otx* が発現しないことを明らかにした (図4)。なお、ウミユリ類では反口側神経系が運動の統合にかかわることが先行研究で明らかになっている。

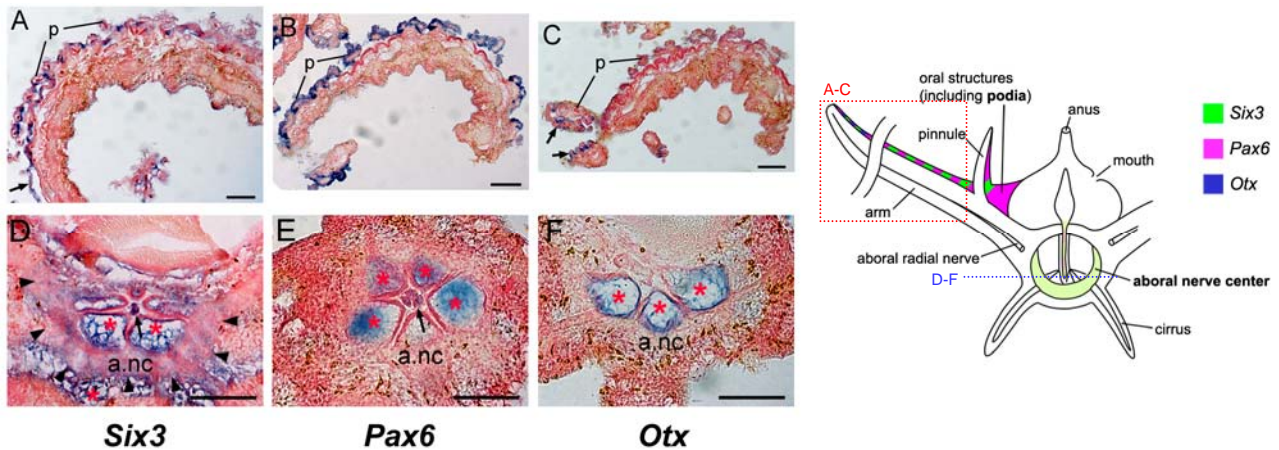


図4：ニッポンウミシダ幼体における *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現。Whole-mount *in situ* hybridization により遺伝子発現部位を可視化した後、切片を作成し、Nuclear Fast Red による対染色を施して観察した。右図は本研究で解析した遺伝子の発現パターンを模式化したものである。A-C: 腕の矢状断面 (模式図、赤点線で囲った範囲を切断)、口(mouth)および肛門(anus)のある側を上として配置。D-F: 冠部の水平断面 (模式図、青点線の面で切断)。これらの遺伝子は管足(podia, p)で発現し(A-C)、*Six3* は反口側神経中枢(aboral nerve center, a.nc)でも発現が見られるが(D, 矢じり)、*Pax6*, *Otx* は反口側神経中枢では発現しない(E, F)。\*はプロンプの非特異的な結合による着色である。 scale: 100  $\mu$ m.

これらの研究成果、および棘皮動物の組織構造や行動に関する先行研究の知見より、私は棘皮動物の神経系の進化について以下の仮説を提唱する。

- ・ 棘皮動物では、ホメオボックス遺伝子群の前後領域化の機能が浮遊幼生の内中胚葉に限定されることにより、頭部構造を作ることができず体制が大きく変化した。
- ・ 棘皮動物の共通祖先では口側神経系が感覚神経系、反口側神経系が運動神経系として存在しており、ウミユリ類は進化の過程で獲得した多数の腕の運動を統合するために反口側神経系および神経節を利用した。一方、ウニやヒトデでは体制がより単純化したことで感覚、運動両神経系を口側神経系に統合し、反口側神経系が退化した。