

# 論文審査の結果の要旨

氏名 大 森 紹 仁

本論文は3章からなる。第1章は、ウミユリ類トリノアシの産卵誘起法について、第2章は、後生動物の前方領域化・中枢神経系の形成に保存的機能をもつ *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現パターンと棘皮動物の幼生における前後軸の進化について、第3章は、論文提出者が開発したウミユリ類ニッポンウミシダにおける遺伝子発現パターンの解析手法と、その手法を用いた *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現、棘皮動物の成体神経系の進化について述べられている。第2章は、黒川大輔、雨宮昭南、赤坂甲治（敬称略）との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解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。なお、共著者の黒川大輔は実験手法のアドバイス、雨宮昭南は実験動物の採集協力、赤坂甲治は研究全体の指導を担当した。

棘皮動物は左右相称動物の中で唯一、頭部構造をもたないため、体軸について議論が多かった。従来は、棘皮動物のモデルとして実験に使いやすいウニが用いられてきたが、ウニは派生的な棘皮動物であり、モデル動物とはいえない。ウミユリ類はウミユリ類以外の棘皮動物が失った神経節と発達した反口側神経系を保持しており、神経節が頭部中枢神経系に相当すると考えられてきた。祖先的形質を有するウミユリ類の研究が待たれていたが、飼育が困難で、人工的な産卵誘起の方法がないなどの問題があり、研究は限定的であった。遺伝子の発現解析に主眼をおいた研究は、僅かにトリノアシの初期幼生期における数種類の Hox 遺伝子の発現解析 (Hara *et al.*, 2006) のみである。

本研究は、以下のような新規性と意義をもつ。

1. 生殖期にあるトリノアシに、一定の機械的刺激を与えることで産卵を誘起させることに成功した。これにより、採卵機会を大幅に増やすことができるようになり、今後のトリノアシを用いた発生学研究の発展に大きく貢献すると期待される。
2. ウミユリ類の遺伝子の空間的発現パターンの従来の解析法は、シグナル強度、解像度に問題があった。論文提出者は固定試料の処理方法を改良するとともに、連続切片を作成することにより、発現パターンを細胞レベルまで詳細に解析する方法を開発した。初期発生期の幼生から変態を経て成体と同じ形態の幼体に至るまでの遺伝子発現パターンの解析例はウニにおいてもほとんどなく、本研究で開発した実験手法は今後の棘皮動物全般における進化発生学研究において有用な研究手法と期待される。
3. 本研究により、前方の領域化の保存的役割をもつとされる Homeobox 遺伝子 *Six3*, *Pax6*, *Otx* がトリノアシ、ニッポンウミシダにおいて、浮遊幼生の内中胚葉の前後軸に沿った領域化に関わることが明らかになった。先行研究におけるトリノアシ Hox 遺伝子の発現解析では、内中胚葉後方から分化する一器官での発現を確認しているのみであり、他の棘皮動物においても浮遊幼生期の胚葉全体の領域化に関わる例は報告されていない。Homeobox 遺

伝子群が棘皮動物浮遊幼生の内中胚葉全体の前後領域化に関わることを示したのは本研究が初めてであり、学術的な意義は大きい。

4. ウミユリ類の中で唯一、幼体期までの発生過程を実験的に解析することが可能なニッポンウミシダを用いて、前方領域化・中枢神経系の形成に保存的機能をもつ *Six3*, *Pax6*, *Otx* の発現パターンを解析した研究では、幼体では *Six3*, *Pax6*, *Otx* は神経系で発現するものの、前方領域化との明瞭な関連がないことを明らかにした。これにより、棘皮動物が進化の過程で分岐した段階で頭部構造を失ったことが示唆された。棘皮動物の中でウミユリ類のみが、神経節を含む反口側神経系を有し、神経節が頭部神経中枢に相当するという議論があったが、*Six3*, *Pax6*, *Otx* は神経節及び反口側神経系では発現していないことを明らかにし、神経節は脳に相当しないことを明確に示した。また、口側神経系は感覚神経系、反口側神経系は運動神経系に相当することを示唆した。ウミユリ類以外の棘皮動物は反口側神経系を退化させており、口側神経系が感覚と運動をつかさどるが、ウミユリ類では感覚と運動の神経系に分かれている。本研究により、ウミユリ類以外の棘皮動物は進化の過程で、感覚と運動の神経系を口側神経系に統合したことが示唆された。

本研究により、従来は研究することができなかった祖先型棘皮動物ウミユリ類を実験動物とする手法が開発され、ウミユリ類を用いた実験を可能にした。また、本研究は、その手法を用いて後生動物の頭部形成、中枢神経系に広く保存された機能をもつ *Six3*, *Pax6*, *Otx* が、ウミユリ類の幼体の体軸に沿ったパターン形成にかかわり、成体と同じ形態の幼体では神経系の形成にかかわることを世界で初めて示し、特異な形態のため不明な点が多かった棘皮動物の体軸、神経系の理解に大きく貢献した。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。