

氏 名	かこい 梲 しょう 昭 た 太
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3041 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	軟体動物の殻形態多様化の背景にある発生機構の進化について
論文調査委員	(主 査) 教 授 白 山 義 久 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 片 山 一 道 和 田 洋 (筑波大学生命環境科学研究科助教授)

論 文 内 容 の 要 旨

軟体動物の特徴のひとつとして多様な殻形態があげられるが、本研究では、特に二枚貝綱への進化過程に着目した。二枚貝綱は、単板綱様の一枚の殻板を持った祖先が、背側中央部に蝶番を獲得することによって左右に殻が分割されて二枚の殻になったと考えられている。したがって二枚貝綱への進化過程の背景にある発生機構の進化を理解する上で、蝶番獲得の背景にある発生機構の進化を理解することが特に重要である。そこで第一章では、二枚貝綱の発生学的研究を分子レベルでも可能とするため、ケガキ *Saccostorea kegaki* の発生を記載するとともに、EST 解析によるマーカー遺伝子の探索を行った。第二章では、二枚貝綱の蝶番獲得について、*engrailed* と BMP によって貝殻腺の境界部分を規定する機構を採用したのかどうか、腹足綱と二枚貝綱とで BMP シグナルの発現を比較することによって検証した。ケガキの BMP2/4 と BMP5-8 の発現を解析した結果、BMP2/4 が将来貝殻腺となる X 細胞の前後に位置する細胞において発現していた。そして BMP5-8 は母性的に胚全体で発現していたが、殻形成期には貝殻腺領域以外の外胚葉上皮に発現が限定された。またリン酸化 SMAD の抗体染色により BMP シグナルを受容した細胞を同定した結果、腹足綱と二枚貝綱の両方で貝殻腺の境界部において染色された。以上の結果から BMP シグナルが貝殻腺の境界を規定する機構は、腹足綱と二枚貝綱とで共通していると考えられた。また第三章では、腹足綱で知られる腹側中央線が二枚貝綱との共通祖先にも見られるのか、また腹側中央線のシグナルが背側へ延長された結果、二枚貝綱の蝶番獲得に結びついたのかを、腹足綱と二枚貝綱とで *hedgehog* と *brachyury* の発現解析を行った結果を比較することで検証した。腹側中央線において *brachyury* の発現が見られることは両者で共通していた。一方、*hedgehog* の発現については両者の間で違いがあり、腹足綱では腹側中央線において発現していたが、二枚貝綱では蝶番の前後両端部分に特異的に発現していた。また *engrailed* が蝶番に発現していることもすでに知られている。以上のことから、少なくとも二枚貝綱と腹足綱との共通祖先では、BMP シグナルと *engrailed* を用いて貝殻腺境界部を規定することが行われ、また腹側中央線の形成には *brachyury* が用いられていたと考えられた。そして、祖先の腹側中央線で利用されていた *hedgehog* シグナルが、二枚貝綱の系譜において、背側中央部へ移動して新規構造である蝶番の獲得に結びついたのではないかと考えられた。祖先において、貝殻腺境界部で BMP2/4 が果たしていた機能は二枚貝綱の系譜において BMP5-8 によって受け継がれ、一方 BMP2/4 は新たな発現パターンを獲得した結果、新規構造である蝶番の獲得に結びついたと考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、軟体動物を特徴づける殻形態が、二枚貝綱、腹足綱といった分類群間でどのようにして多様化していったか、またその背景にどのような遺伝子レベルでの進化があったのかを明らかにしようとしたものである。欧米の研究グループを中心にして、腹足綱を用いた発生学の研究は多少行われているが、二枚貝綱の初期発生に関する研究は、20世紀はじめに行

われた記載以外ほとんどない。

このような現状に対応して、本研究では二枚貝綱の代表としてケガキを取り上げ、発生学研究の土台を築くところから始めた。そして発生過程を詳細に記載したばかりでなく、原腸胚から得られた cDNA ライブラリーを用いて初期発生における組織特異的な遺伝子マーカーの探索を行い、繊毛細胞、前方中胚葉、後方中胚葉、貝殻腺形成前駆細胞などのマーカーを得ることに成功した。これは、ケガキの発生学研究を行う上での基礎を築いた研究成果として評価することができる。

その後、申請者は二つの作業仮説を立て、その仮説の遺伝子発現からの検証を試みた。最初の仮説は、二枚貝綱の2枚の殻は、一つだけ形成される貝殻腺の中心部に、殻の境界を規定する機構が二次的に働くことによって形成されるというもので、その仮説を検証するために、腹足綱において貝殻腺の境界形成に関わることが知られている BMP シグナルのケガキにおける働きを解析した。結果は必ずしも境界の延長により、殻が2枚に分かれたことを支持しなかったが、BMP2/4 の進化が二枚貝綱に特有の貝殻腺のリボン状の形態を形成する過程に関わっていることを示唆した。

次に、二枚貝綱の殻が正中線上で分裂する際に、腹足綱の腹側正中線の形成に関わる因子が用いられているという仮説を関与が知られている hedgehog と brachyury の二遺伝子のケガキにおける発現から検証した。その結果、分泌性の hedgehog シグナルが正中線上で殻の分泌を抑えるなどの働きをして、殻を二分することに関わっている可能性を示し、腹側正中線の形成に関与する遺伝子の一部が二枚の殻を獲得する際に重要な役割を果たしたのではないかと可能性を強く示唆した。

進化の機構を明らかにするためには、遺伝子の機能を明らかにするための機能解析が不可欠だが、本研究は発現を調べるだけにとどまっており、仮説が十分に検証されているとはいえない。しかし、二枚貝綱の発生学的な知見がほとんどない現状で、特有の殻形成の進化に重要な役割を果たした可能性の高い遺伝子を絞り込んだ点、さらにはケガキという種を発生学の研究材料の系として確立した点は、軟体動物の貝殻形態の進化に関する研究に大いに貢献する成果であると評価された。

よって本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。