

京都大学	博 士 (理 学)	氏 名	石 田 祐
論文題目	Evolutionary developmental analysis of the neural plate border and tail bud in embryos of ascidians and amphioxus (ホヤ胚およびナメクジウオ胚を用いた神経板境界および尾芽についての進化発生学的解析)		
(論文内容の要旨)			
動物のボディプランの進化は細胞型の進化と不可分な関係にあり，新奇な細胞型の出現が新奇なボディプランの獲得をもたらしてきた。脊椎動物を特徴づける「頭部」および脊索動物を特徴づける肛後尾（post-anal tail）の獲得はその好例であると考えられる。頭部については，神経堤細胞（神経堤）および頭部プラコード細胞（頭部プラコード）と呼ばれる神経板境界から生じる新奇な細胞型が脊椎動物の共通祖先において獲得されたことが，頭蓋顔面骨格の構築や新奇な感覚系の出現などをもたらし，「新しい頭部」の獲得を容易にしたとする仮説が広く受け入れられている。また，脊椎動物の肛後尾は，尾芽に存在する幹細胞様の前駆細胞集団である神経中胚葉前駆細胞（neuromesodermal progenitors）や中軸前駆細胞（midline progenitor cells）によって形成される。肛後尾が脊索動物門（脊椎動物亜門・被囊動物亜門・頭索動物亜門）の共有派生形質であることから，脊索動物の共通祖先において尾芽に幹細胞様の前駆細胞集団が出現したことが後方への付加伸長を容易にし，肛後尾の獲得を可能にした可能性がある。このように，脊索動物の進化史においても，ボディプランの進化は細胞型の進化と不可分な関係にあると考えられる。したがって，神経堤細胞・頭部プラコード細胞・神経中胚葉前駆細胞・中軸前駆細胞といった細胞型が，いつ・どのような形で出現したのか，どのような変遷を経て進化してきたのかを知ることは，脊索動物の進化過程を理解するうえで重要である。 本博士論文ではまず，脊椎動物と姉妹群をなす被囊動物であるカタユウレイボヤ<i>Ciona robusta</i> (<i>Ciona intestinalis</i> type A) の原腸胚を対象として，神経板境界における転写因子遺伝子の発現を細胞単位で解析した。カタユウレイボヤの神経板境界が，遺伝子発現様式の類似性を基準として，前方神経板境界・近位側方神経板境界・遠位側方神経板境界に区分できることを見出した。これらはそれぞれ，脊椎動物胚における頭部プラコード・神経堤・正中膜ヒレ形成領域と類似した遺伝子発現様式を有していた。さらに，近位側方神経板境界に位置する細胞群の発生機構の解析を行い，この細胞群が脊椎動物の神経堤細胞と神経中胚葉前駆細胞の両者の性質を併せ持つことを見出した。これらの結果に基づき，神経中胚葉前駆細胞の進化的起源が少なくとも脊椎動物と被囊動物の共通祖先まで遡り，少なくとも一部の神経堤細胞と神経中胚葉前駆細胞が共通の進化的起源を有するという進化モデルを提唱した。 次いで，尾芽に存在する幹細胞様の前駆細胞集団である神経中胚葉前駆細胞や中軸前駆細胞の進化的起源が脊椎動物の共通祖先にまで遡る可能性を検証した。現存の脊索動物のうち最も初期に分岐した頭索動物であるフロリダナメクジウオ<i>B ranchiostoma floridae</i>を対象として尾芽の細胞系譜追跡実験を行い，ナメクジウオの尾芽から脊索・体節・神経索が生じることを見出した。この結果は，尾芽に存在する幹細胞様の細胞集団の進化的起源が，少なくとも現存のすべての脊索動物の共通祖先まで遡ることを示唆している。			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

脊椎動物が誕生する進化の過程では、発生中に生じるいくつかの重要な細胞タイプの獲得が鍵となったと考えられている。その代表例として、末梢神経系や様々な結合組織を作り出す神経堤細胞、頭部の様々な感覚器官を作り出す頭部プラコード細胞、肛門より後方の尾部形成に重要な神経中胚葉前駆細胞が挙げられる。脊椎動物の姉妹群である尾索（被囊）動物の一種であるカタユウレイボヤでは、脊椎動物の神経堤細胞および頭部プラコード細胞と進化的起源を共有すると推測される細胞が存在するが、個々の細胞の相同性については定説が得られていなかった。また、尾部後方に存在する神経中胚葉前駆細胞の進化的起源についてはほぼ完全に未解明であった。

脊椎動物の神経胚には神経板と呼ばれる構造が生じ、中枢神経系へと分化するが、この神経板と、隣接する表皮領域の境界に頭部プラコードと神経堤細胞が生じる。この事実を踏まえて、本論文では、カタユウレイボヤ胚の神経板と表皮の境界領域に着目し、そこで発現する転写因子遺伝子の発現を網羅的に調べた。その結果、当該領域が、三つの独立した領域により成り立っていることを明らかにした。この解析により、断片的な情報に基づく従来の研究では困難であった頭部プラコード相同領域と神経堤相同領域の正確な同定に成功した。

次に神経板の側方境界領域で働く遺伝子回路の解析を進め、神経堤相同領域の細胞は、神経中胚葉前駆細胞の性質も持っていることを見出した。公開されている単一細胞トランスクリプトームデータを利用した細胞タイプの種間比較により、見出したホヤ胚の細胞が、トランスクリプトームの観点でも脊椎動物の神経中胚葉前駆細胞と近縁であること示した。このことは、脊椎動物の誕生以前に神経中胚葉前駆細胞が存在していたことを示唆するのみならず、脊椎動物の神経堤と神経中胚葉前駆細胞が進化的起源を共有する可能性を示すものである。こうした成果により、本論文では、脊椎動物と尾索動物の最後の共通祖先の段階では、神経堤と神経中胚葉前駆細胞の両方に共通の祖先的細胞が存在し、脊椎動物の系統ではそれが神経堤と神経中胚葉前駆細胞に分化していったとする進化モデルを提示している。

本論文では、神経中胚葉前駆細胞の進化的起源をさらにさかのぼるために、尾索動物および脊椎動物とともに脊索動物門を構成する頭索動物ナメクジウオの胚を用いて実験をおこなっている。尾部後方の細胞の蛍光タンパク質を用いた系譜追跡をおこない、ナメクジウオ胚の尾部後方の細胞は、脊椎動物の神経中胚葉細胞と同様に、尾部の神経系細胞と中胚葉細胞を作り出すことができることを明らかにした。

頭部プラコード、神経堤、神経中胚葉前駆細胞はいずれも脊椎動物を特徴づける多くの形質の発生にかかわる細胞群であり、本論文の研究成果はその進化的起源の解明を大きく進めるものである。

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、平成8年1月13日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降