

論文の内容の要旨

Developmental studies on the pentaradial body plan in a sea cucumber *Apostichopus japonicus*

(棘皮動物マナマコにおける五放射相称ボディプランの
形成機構に関する発生学的研究)

氏名 宇田川 澄生

序論

棘皮動物門はウニ、ヒトデ、ナマコなどを含む海棲無脊椎動物のグループで、この門特有の大きな特徴として五放射相称のボディプランを持つという点が挙げられる。棘皮動物は左右相称動物の共通祖先から進化したと考えられており、ボディプランの多様化を理解する上で重要な動物群と位置付けられる。しかしながらこの五放射相称ボディプランの発生機構はほとんど明らかになっていない。

棘皮動物は左右相称の幼生が変態して五放射相称の幼体となる。この過程で最初に五放射相称の形態が観察されるのは水腔と呼ばれる、幼生の左側に生じる体腔組織である。水腔は発生が進むに従って5の倍数個の突起(水腔葉)を生じるとともに環状に変形して五放射相称の形態となる(図1)。この水腔はやがて循環・運動・摂食器官である水管系となり、その周囲には骨片や神経、筋肉等の成体組織が形成されて五放射相称のボディプランが完成する。

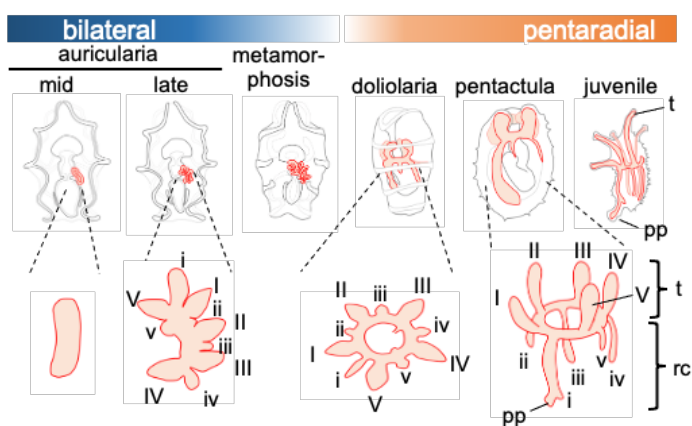


図1 マナマコの発生過程模式図

左右相称の幼生(左)が変態して五放射相称の幼体となる(右)。橙色部分が水腔。

本研究では、幼生が透明で水腔の観察が容易な棘皮動物マナマコ *Apostichopus japonicus*

を材料として、五放射相称ボディプランの発生における水腔の機能と、水腔の形態形成機構の解明を目標とした。具体的には、発生過程で最初に五放射相称の形態をとる組織である水腔は、他の組織の五放射性を制御しているのかを検証し（結果1）、さらに水腔自身はどのような細胞の挙動によって五放射相称の形態形成を実現するのかを調べた上で（結果2）、その過程で発現変動する遺伝子を探索し、五放射相称の形態形成への関与が示唆されたシグナル経路の解析を行った（結果3）。

結果1. 水腔葉は五放射相称のボディプラン形成に必須である

マナマコ幼生の水腔葉をレーザー照射によって切除し、五放射相称のボディプラン形成への影響を評価した。水腔葉を切除すると、水腔から生じる水管系に欠陥が生じるだけでなく、5本形成されるはずの神経索の本数も減少した。このことから、水腔はそれ自身が五放射相称となるのみならず、水腔に沿って形成される他の組織が五放射相称の形態となる上でも必須の組織であることが示された（図2）。つまり五放射相称の水腔が他の組織形成を制御することで五放射相称のボディプランが形成されていると考えられる。

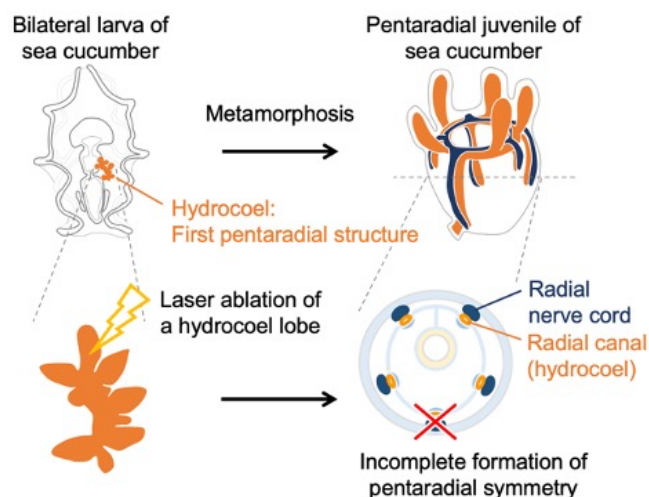


図2 水腔葉を切除すると神経索も減少した

結果2. 水腔葉の形態形成においては主として局所的な細胞移動が原動力として働く

結果1より水腔が五放射相称ボディプランの発生において中心的な役割を果たすことが示された。次に、水腔自身が五放射相称となる形態形成機構を明らかにするために水腔の細胞の挙動を調べた。特に水腔葉の数が決まる過程に注目し、その過程を4つの段階に分けて観察した。

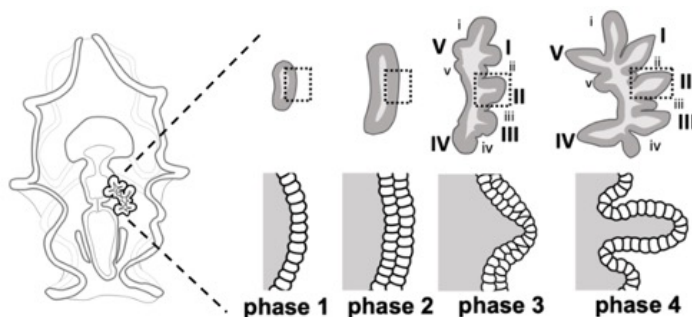


図3 水腔葉形成時の細胞配列

- 1.水腔組織の細胞層が多層となる(phase 2)
- 2.水腔葉の先端で細胞層が単層となる(phase 3)
- 3.水腔葉の基部でも細胞層が単層となる(phase 4)

形態形成の原動力として主に細胞分裂と細胞の変形・移動が考えられるが、細胞分裂を阻害

しても水腔葉の形態形成に異常は見られなかった。一方、細胞の配置・形態を調べると水腔葉の発達に伴って細胞層が局所的に多層から単層に移行していることが分かった。このことから、選択的な radial intercalation（平面垂直方向への細胞移動）による上皮組織の伸展が、水腔葉形成の原動力となっていることが推測された（図3）。

結果 3. 水腔で発現する遺伝子の特定と Wnt シグナル経路の機能解析

水腔が五放射相称の形態となる際には、まず水腔葉の位置や数を決定するパターン形成が起こり、そのパターンに従って結果 2 で観察された細胞移動が起こると考えられる。このパターン形成や細胞移動の制御に関わる候補遺伝子を探索するため、水腔組織を結果 2 で定義した発達段階ごとに摘出して水腔組織特異的な RNA-seq 解析を行った。これまで水腔で特異的に発現する遺伝子はほとんど知られていなかったが、RNA-seq の結果をさらに *in situ* hybridization 法で確認したところ、*foxC*, *zic*, *six1/2* といった複数の転写因子や、Wnt, Delta といったシグナル経路に関与する遺伝子が発現していた。

その中でも特に、Wnt の受容体である *frizzled1/2/7* と *frizzled4* が水腔において入れ子状に発現しており、そのパターンは発生の進行に伴って複雑化していくことが明らかになった。また Wnt シグナルの阻害により水腔組織が崩壊することも示された (図 4)。これらの結果から水腔の細胞移動の制御や、水腔葉の位置・数の決定への Wnt シグナルの関与が示唆された。

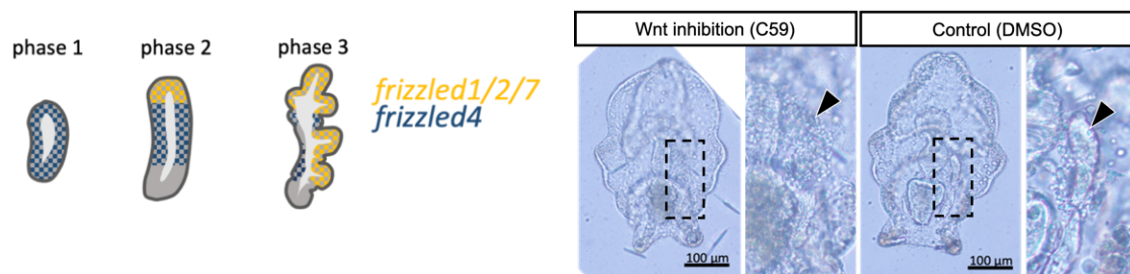


図 4 水腔における *frizzled* の発現パターン(左)と Wnt シグナル阻害のフェノタイプ(右)

まとめと展望

本研究では、まず五放射相称の水腔が、他の組織の五放射相称パターンを規定していることを明らかにした。そして水腔の五放射相称構造は細胞運動によって形成され、その形態形成に Wnt シグナルが関与していることが示唆された。

今後、水腔における Wnt シグナル経路の更なる解析や他の棘皮動物との比較を行うことで、棘皮動物に共通する五放射相称ボディプラン発生機構の理解が深まると期待される。さらに、近縁な左右相称動物との比較により五放射相称ボディプランの獲得過程の理解にも繋がると考えられる。