

# 論文審査の結果の要旨

氏名 清水 啓 介

本論文は、軟体動物における貝殻形成メカニズムを、貝殻の初期形成に関与する遺伝子カスケード（初期発生）から、貝殻螺旋成長を制御する分子メカニズム（後期発生）まで包括的に考究し、その貝殻形態の進化との関連を論じたものである。軟体動物の貝殻は、カンブリア紀以降化石記録が連続的かつ豊富であるため、その形態進化に着目した進化古生物学的研究が古くから行われてきた。一方で、実際の形態進化プロセスは、発生プログラムの改変の歴史であり、化石として残される形態情報からだけでは形態進化の至近要因に迫ることは困難であった。本論文は、現生貝類の貝殻発生プロセスの一端を解明し、化石を含む貝殻の多様な形態進化を発生システムの観点から理解する道筋を初めて明らかにした画期的成果である。全体は7章からなり、主要部である第2章から第6章までの5つの章が、全体の導入部（第1章）と総合的議論（第7章）に挟まれた構成となっている。

第2章では、腹足類（巻貝）における貝殻形成メカニズムを明らかにするため、淡水棲巻貝タケノコモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) の *decapentaplegic (dpp)* 遺伝子の発現解析と Dpp のシグナル阻害剤を用いた機能解析を行った。*dpp* 遺伝子は、モノアラガイのトロコフォア期に貝殻腺の右側のみで発現することが知られていた。今回新たにベリジャー期においても、貝殻の後期発生を担う外套膜の右側のみでスポット状に *dpp* 遺伝子が発現していることを明らかにした。また、貝殻形成が始まるトロコフォア期やベリジャー期において、

Dpp のシグナル阻害剤ドーソモルフィンによる機能阻害実験を行った結果、貝殻が巻かずに円錐形の貝殻を持つ奇形が得られた。これらの結果から、Dpp の濃度勾配が貝殻の成長勾配を生み出し、外套膜での *dpp* の発現パターンの変化が貝殻形態の変化を引き起こしていることを示した。

第 3 章では、螺旋状の貝殻を持つタケノコモノアラガイ (*L. stagnalis*) の右巻 (野生系統) と左巻 (変異系統) と、笠型の貝殻を持つセイヨウカサガイ (*Patella vulgata*) とクサイロアオガイ (*Nipponacmea fuscoviridis*) の様々な発生段階における *dpp* および Dpp シグナルの下流で働くリン酸化 SMAD (pSMAD) の発現パターンを比較した。その結果、貝殻腺だけでなく成体の外套膜においても、*dpp* と pSMAD がモノアラガイの右巻では右側、左巻では左側で発現するのに対し、笠型の 2 種では左右対称に発現していることを明らかにした。これらの結果から、外套膜上での *dpp* の発現パターンを左右非対称から左右対称へと変化させるような発生システムの変更により外套膜の成長パターンが変化し、螺旋型から笠型への貝殻形態の進化が引き起こされたことが示唆された。

第 4 章では、頭足類のオウムガイ (*Nautilus pompilius*) を用いて、pSMAD の発現解析を行ない、前後方向に螺旋成長をするオウムガイの成体外套膜では pSMAD が前方でより強く発現しており、Dpp シグナルの分布パターンが貝殻の成長勾配と一致していることを明らかにした。このことから、腹足類と頭足類の共通祖先ですでに Dpp による貝殻螺旋成長の制御機構が獲得されていたことが示唆された。また、外套膜における Dpp シグナルの濃度勾配の変更により、絶滅種であるアンモナイト類などの多様な貝殻形態の進化が説明できる可能性が示唆された。

第 5 章では、貝殻の初期形成の分子メカニズムに着目し、レチノ

イン酸経路に関わる3つの遺伝子、レチノイン酸合成酵素(*aldh1a*)、レチノイン酸分解酵素(*cyp26*)、レチノイン酸受容体(*rxr*)を同定した。また、セイヨウカサガイのトロコフォア期・ベリジャー期において *cyp26* の発現解析を行い、貝殻腺と外套膜の縁辺部で発現していることを示した。さらに、クサイロアオガイの初期胚にレチノイン酸またはレチノイン酸阻害剤で処理を行なうことで、貝殻腺で発現するホメオティック遺伝子である *engrailed* の発現が抑制され、貝殻が形成されない表現型が生じることを発見した。これらの結果から、レチノイン酸経路による *engrailed* の制御が軟体動物における貝殻という新規形質の獲得に重要な役割を果たした可能性を示した。

第6章では、*dpp* 遺伝子を含む TGF- $\beta$  スーパーファミリーの進化プロセスを明らかにするため、二枚貝類のアコヤガイ (*Pinctada fucata*) のゲノム概要配列を用いて TGF- $\beta$  スーパーファミリー遺伝子の同定を行い、これまで前口動物では見つからなかった BMP3、BMP9/10、Nodal を発見した。また、前口動物と後口動物の共通祖先における遺伝子セットの復元を行った結果、軟体動物が前口動物の祖先に近い遺伝子セットを保持していることを明らかにした。

なお、本論文第2章は飯島実博士ほかの各氏と、第3章は浅見崇比呂博士ほかの各氏と、第4章は佐々木猛智博士ほかの各氏と、第5章は工藤哲博士ほかの各氏と、第6章はデフィン・スティアマルガ博士ほかの各氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分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。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。