

研究課題別評価

1 研究課題名: 左右相称動物の共通祖先のボディープランの究明

2 研究者氏名: 秋山-小田 康子

3 研究の狙い:

左右相称動物の共通祖先はどのような形態をした動物であったのか、そして進化の過程で遺伝子や遺伝子カスケードにどのような変化があり、節足動物や脊索動物など、形態的特徴をもつ動物分類群が誕生したのかを理解することを目指している。近年、分子発生学的に解析された動物の発生メカニズムに関して、類似点や相違点が動物門を越えて論じられてきた。しかし動物の系統関係と、形態や発生メカニズムを整合性をもって結び付けるには至っていない。また同じ動物門内で同様の形態を作り上げるための発生メカニズムにも、例えば節足動物の体節形成メカニズムなどにも、多様性があることが分かってきている。進化の過程での動物門の形態的特徴の確立や、動物門間の相違点を理解するためには、それぞれの動物門の祖先的な形質を見出す必要がある。そこで本研究では、ショウジョウバエの情報を有効に利用できることに着目して、節足動物の初期胚発生メカニズムの祖先的形質の理解を目的とした。そのために節足動物の中では進化の早い時期に昆虫類と分岐したと考えられている鋏角類のオオヒメグモを研究材料として選んだ。方法として、このクモで遺伝子機能や遺伝子カスケードを解析する実験系を開発し、ショウジョウバエの初期胚発生に関わる遺伝子のオオヒメグモ相同遺伝子を網羅的に単離する。発生の初期に起こる現象である、体軸形成・胚葉形成・体節形成を解析し、ショウジョウバエとの比較、さらには脊索動物など他の動物門との比較を行う。

4 研究成果:

(1) オオヒメグモにおける dsRNAi 法の開発

線虫やある種の昆虫で行われていた parental RNAi 法を参考にして、オオヒメグモで遺伝子発現を抑制する実験系を作ること成功した。これは、成熟したメスのクモの後体部に二本鎖 RNA を注入し、特異的に遺伝子発現が抑制された卵を得るものである。オオヒメグモは5~7日ごとに200個程の卵を産むが、例えば *sog* 遺伝子に対する二本鎖 RNA を注入した時には、注入後3回目以降の産卵で得られた卵のほぼ100%に表現型が現れた。この方法は1つ1つの卵に RNA を微量注入する方法よりもはるかに手軽であり、確実に効果がでる。高率で表現型が現れるので遺伝子発現の変化の解析や表現型のライブ観察を確実にできる系となった。

(2) 体軸形成の解析

クモ胚でははじめに形態的に放射相称の胚盤が形成され、続いて胚盤の中心から縁に向かって一方向にクムルスという膨らみが移動して前後・背腹の軸をもつ左右相称になる。ショウジョウバエ初期胚のパターン形成に関わる遺伝子のクモ相同遺伝子を単離し、発現を解析した結果、次のようなことが明らかとなった。クムルス移動前の胚盤では *sog*, *snail*, *otd*, *hox* など多くの遺伝子が環状に発現する。クムルスには *dpp* 遺伝子を発現する間充細胞塊が存在し、上皮細胞の基底側を移動しながらシグナルを伝え、背側胚外組織を誘導する。この細胞塊の移動により、環状であった他の遺伝子の発現パターンは非対称となる。さらに *dpp* RNAi 胚では、他の遺伝子発現は環状のままであり、放射相称性が保たれていると考えられた。以上のことから、胚盤は分子的にも放射相称であり、*dpp* を発現する細胞塊の移動が非対称性を作り出すはじめのものであると考えられた。

(3) 背腹のパターン形成の解析

クモの発生では上記の *dpp* の働きにより背側胚外組織と胚組織に分かれ、続いて胚組織には背腹軸に沿って、付属肢、中枢神経系、腹側正中線といった組織が形成される。このような体軸に沿ったパターンの形成について解析した。形態的な変化に先立って、*sog* 遺伝子の発現領域が徐々に腹側に限局し、Dpp シグナルはこの *sog* の発現と相補するように、より腹側の領域にまで伝わるようになっ

た。*sog* RNAi 胚では、背側に形成される左右の付属肢が腹側でもつながり、腹側正中線で発現する *fkf* や *sim* の発現が見られなくなった。中枢神経系の細胞の数が激減することも分かった。一方 *fkf* RNAi 胚では *sog* の発現領域の腹側への限局は起こっていた。以上の結果から、背腹軸に沿ったパターンの形成には *Sog* と *Dpp* を介する細胞間相互作用が重要であり、腹側正中線の形成には *sog*, *fkf*, *sim* というカスケードがあること、中枢神経系の形成は腹側正中線の形成と強く相関していることが考えられた。腹側正中線で発現する *sog*, *fkf*, *sim* の相同遺伝子は脊椎動物やナメクジウオで脊索や floor plate などで発現する。これらは神経誘導に関わる組織なので、クモの腹側正中線の機能や他の動物における相同な組織に関して慎重に検討する必要があるが出てきた。

(2),(3)の結果からハエとクモの体軸形成の違いが見えてきた。ハエでは母性因子の非対称な分布をもとに並列的に体軸に沿ったパターンが形成されるのに対し、クモでは細胞間相互作用に重きをおいた直列的な方法により形成される。これはクモの胚発生に調節的な側面が多く見られることとも関係していると考えられる。ハエとクモの様式のどちらが節足動物としてより祖先的なものであるのかは現時点では判断できないが、クモの様式が明らかになったことにより、節足動物の祖先的な形質の新たな可能性を示すことができた。

(4) 中胚葉形成の解析

ショウジョウバエの中胚葉は、*twist*, *snail* 遺伝子を発現する胚のもっとも腹側の領域が一度に内側に入り込むことによって形成される。オオヒメグモで *twist*, *snail* 遺伝子を同定し発現を解析したところ、*twist* は中胚葉で発現するが、*snail* はしないことが分かった。そこで *twist* の発現をもとにクモの中胚葉形成を解析した結果、*twist* を発現する細胞は胚盤の中心付近と周縁部に現れ、個々の細胞が非同調的に内側に入り込むことが分かった。つまりハエとは異なり、背腹軸形成とは独立に起こる現象である。胚盤上の細胞が中胚葉としての運命をもつことに Notch, Delta 遺伝子が関わることも分かってきた。

5 自己評価:

生物の進化の問題は簡単に理解できるものではないので、タイトルやはじめに掲げた目標は3年間でやる研究としては大き過ぎるものだったかもしれない。しかし、クモの胚発生の解析を通して明らかになったことは、節足動物の祖先的な形質や、動物の系統関係、組織の相同性をあらためて考えるきっかけとなるものであったので、動物進化学の分野に対して意義のある知見を提供できたと考えている。また、具体的な研究の目標として、ショウジョウバエの初期胚発生に関わる遺伝子の相同遺伝子を網羅的にクモから単離し、クモの体軸形成・胚葉形成・体節形成を総合的に解析し、ハエと比較することを、はじめに設定したが、実際には詳細に解析できたのは体軸形成だけにとどまった。体軸形成に関しては発生学としても興味深い知見を得ることができ、意味のある研究になったと思う。胚葉形成や体節形成は動物の系統関係を知る上で重要な現象であるので、これらに関しては今後精力的に取り組みたい。オオヒメグモという、ほとんど誰も研究していない生き物を研究材料としたが、最終的には RNAi による機能解析ができるようになり、よい実験系を作ることができた。このことは今後の研究の発展につながると考えている。

6 研究総括の見解:

左右相称動物の共通祖先を明らかにしようとする研究の最終的目標には未だ道程はある。しかし、これまでに個体形成の領域では注目されなかったクモ類(オオヒメグモ)を実験材料とし、発生研究に十分活用できるユニークな実験系を確立した。また、RNAi 法をいち早く導入し、方法論としての遺伝子機能解析系を立ち上げてクモの初期発生の特徴的な様式を明らかにした挑戦的独創性は高く評価でき、今後の研究の進め方次第で飛躍的展開が十分期待できる。

7 主な論文等:

主な論文

1. Yasuko Akiyama-Oda and Hiroki Oda. Early patterning of the spider embryo: A cluster of

mesenchymal cells at the cumulus produces Dpp signals received by germ disc epithelial cells. *Development* 130, 1735-1747 (2003)

2. Hiroki Oda, Yasuko Akiyama-Oda and Shicui Zhang. Two classic-cadherin related molecules with no cadherin extracellular repeats in the cephalochordate amphioxus: distinct adhesive specificities and possible involvement in the development of multicell-layered structures. *J. Cell Sci.* 117, 2757-2767 (2004)
3. Kazunori Yamazaki, Yasuko Akiyama-Oda and Hiroki Oda. Expression of a *twist*-related gene in embryos of the spider *Achaearanea tepidariorum* reveal divergent aspects of mesoderm development in the fly and spider. *Zool. Sci.* 22, 177-185, (2005)
4. Hiroki Oda, Kunifumi Tagawa and Yasuko Akiyama-Oda. Diversification of epithelial adherens junctions with independent reductive changes in cadherin form: identification of potential molecular synapomorphies among bilaterians. 投稿中

□答発表・招待講演

1. 2002.05.23 クモ胚における体軸形成機構 ～ショウジョウバエ胚発生との違い～ 日本発生生物学会 第 35 回大会
2. 2002.08.04 ショウジョウバエとクモの体軸形成機構の比較 日本進化学会 第 4 回大会
3. 2002.10.14 節足動物の初期胚発生の比較: ショウジョウバエとクモの体軸形成機構 第 75 回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 2003.06.11 クムルス間充細胞の非対称な移動によるクモの体軸形成 日本発生生物学会 第 36 回大会
5. 2003.08.02 ハエとクモの比較胚発生学 日本進化学会 第 5 回大会
6. 2004.03.31-04.04 Establishing bilateral symmetry in the spider embryo. The second Cold Spring Harbor meeting on Evolution of Developmental Diversity
7. 2004.06.06 クモ胚発生における放射相称から左右相称への変換 日本発生生物学会 第 37 回大会
8. 2004.12.09 クモ胚における体軸形成機構の解析 第 27 回 日本分子生物学会年会