

イトマキヒトデにおける五放射相称の発生機構について

山川 隼平 (筑波大学 生物学類)

指導教員：和田 洋 (筑波大学 生命環境系)

<背景と目的>

ヒトデやウニ、ナマコ、ウミユリなど棘皮動物はふつう五放射相称の体制をもつ。五放射相称の体制はこの動物群の最も際立った特徴のひとつであるが、発生過程のなかでどのように「5」という数字が生み出されているのか、分子的なレベルでの研究はほとんど進んでいない。その現状に対して本研究はイトマキヒトデを用い、発生機構の解明を試みた。

イトマキヒトデはビビンナリア幼生がブラキオラリア幼生へと成長し、岩などの外部基質に着底後、稚ヒトデ(成体)へと変態する発生過程を示す。幼生は成体と姿かたちが全く異なるが、幼生期の頃からすでに五放射相称的な構造は形成され始めている。この種においてはまず体の左側に5つの「成体骨片」が形成され、やや遅れて同様に左側に5つの「水腔葉」が観察できるようになる(図1)。成体骨片と水腔葉は幼生の成長と共に発達し、変態時にはこれらの構造をもとに成体が形作られる。本研究の目下の課題は、成体骨片や水腔葉を安定して5つずつ形成させる仕組みを明らかにすることである。

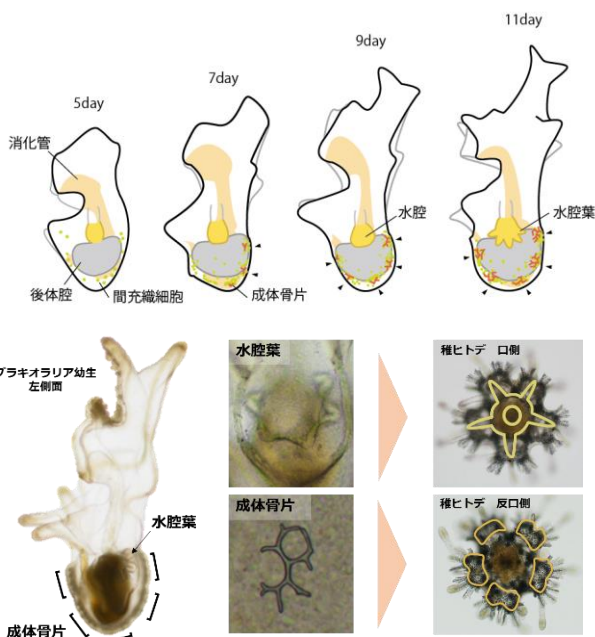


図1:成体骨片と水腔葉の形成過程

成体骨片は間充細胞が集めたクラスターから分化してくる。受精後1週間ほどで後体腔と表皮の間に間充細胞が5か所に分かれて集合しクラスターを形成するために成体骨片も5つ形成される。一方で水腔上皮が5か所の突出部を形成することで5つの水腔葉が形成される。

<実験と結果>

○シグナル経路の阻害実験

成体骨片や水腔葉の形成には細胞間の相互作用が生じていると想定される。そこでこれらの形成に関与するシグナル経路の同定を目的に、薬剤を用いた発生阻害実験を行った。これまでに9種類のシグナル経路(Wnt, HH, Nodal, RA, BMP, Notch, FGF, VEGF, MAPK)の阻害剤を用いたなかで FGF シグナル経路の阻害

(SU5402 処理)により成体骨片の「5」のパターンを人為的に乱すことに成功した(図2)。一方で FGF シグナル阻害を含め、一連の実験で水腔葉の形成に異常は見られなかった。

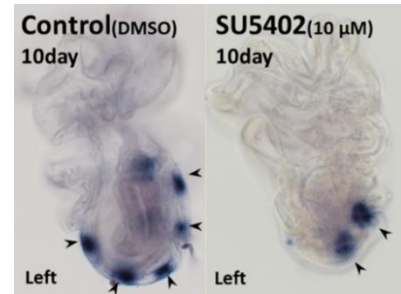


図2: 対照胚と SU5402 処理胚での CA1 の発現

対照胚と比較して SU5402 処理胚では形成される骨の数が減少し、それに対応して骨マーカー遺伝子である CA1 の発現領域にも違いが見られた。

○FGF シグナル関連遺伝子の発現解析

以上の結果を受け、FGF シグナル経路が成体骨片のパターニングに関与していることが示唆された。これまでに同定されたイトマキヒトデの有する3種のリガンド(FGFa, FGFb, FGF8)と2種の受容体(FGFR1, FGFR2)を Whole mount in situ hybridization (WMISH)法によって発現解析を行ったが、骨形成領域での発現は見られなかった。しかし近縁種(*Patiria miniata*)のデータベースから、この種は FGFR に類似した未知の遺伝子を9種類持つことが明らかになった。同属のイトマキヒトデ(*Patiria pectinifera*)も相同な遺伝子を有すると考えられ、これらの遺伝子が成体骨片の形成に関与するのか、発現解析を進めていく予定である。

○Hox 遺伝子の発現解析

Arenas-Mena et al(2000)によるとウニの後体腔で5つの Hox 遺伝子が共線的に発現する。ヒトデにおいても相同な5つの Hox 遺伝子が同様の発現パターンを示し、Hox 遺伝子が成体骨片の分布を制御している可能性がある。発現解析(WMINH 法)を行うと、3種が後体腔で発現を示したが残りは後体腔での発現が見られなかった。「5」の形成への関係性は発現解析のみでは不明瞭であり、CRISPR/Cas9 を用いた機能阻害を試みている。

<考察>

これまで棘皮動物が五放射相称の体制を生じさせる際の分子機構は全く分かっていなかった。本研究により FGF シグナル経路の関与が示唆されたことは、分子機構の解明に向けて大きな手掛かりを得たと言える。原因遺伝子の同定からより詳細な発生機構が明らかになると期待できる。また FGF シグナル阻害により成体骨片の形成パターンに乱れが生じていても水腔葉は正常に5つ形成されることが分かった。このことから成体骨片と水腔葉は独立に「5」が確立されていると考えられる。発生過程のなかでどのように両者が組み合わさるのか、今後検証していきたい。