

博士論文審査報告書

論文題目：Studies on hedgehog signaling in the ascidian *Ciona intestinalis*

「カタユレイボヤにおけるヘッジホッグシグナル伝達系に関する研究」

申請者：イスラム A. F. M. トリクル

1．論文内容の要旨

ヘッジホッグ (Hh) は、胚の左右軸の形成や組織のパターン形成、器官形成など様々な発生現象の制御で中心的な役割を担う細胞間シグナル分子である。脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物であるホヤの Hh シグナル伝達の解明は、発生における Hh シグナルの役割の理解を一層深めることにつながると期待される。本研究では、ホヤ (カタユレイボヤ *Ciona intestinalis*) の幼生および成体器官の発生過程における細胞間相互作用の役割を解明することを目的として、ヘッジホッグ (Hh) シグナル伝達系の解析を行った。以前の研究では、ホヤ胚において Hh とその下流因子である Gli をコードする遺伝子について、未受精卵から尾芽胚期までの空間的発現パターンは知られていたが、幼生期以降の発現パターンは解明されていなかった。本研究ではまず、カタユレイボヤの 2 つの Hh (Ci-hh1、Ci-hh2) と Hh シグナル伝達に関わる 3 つのタンパク質 (Smoothed、Patched、Gli) の幼生期における空間的遺伝子発現パターンを明らかにした。比較ゲノム解析と *in vivo* 実験により、Ci-hh2 と Gli 遺伝子 (Ci-Gli) について、空間的遺伝子発現パターンを再現するために十分なシス調節配列を含むゲノム領域を同定した。この調節領域を用いて光変換可能な蛍光タンパク質 Kaede を発現させることにより、ホヤ幼生の Ci-hh2 または Ci-Gli を発現する細胞を同定し、その発生運命を成体器官の形成過程を通して追跡した。これらの解析の結果、Hh シグナル伝達系は、体の前側の神経外胚葉および内胚葉のパターン形成に関与しており、このはたらきはホヤと脊椎動物の間で保存されていることが示唆された。

2．論文審査結果

ホヤ幼生は発生生物学のモデル生物として古くから使われており、細胞自律的な発生運命決定様式が特徴とされているが、神経系や成体器官の発生においては脊椎動物と同様、細胞間相互作用が重要な役割を担っていると考えられる。本論文では、ホヤ幼生の神経系

および成体器官の発生過程における細胞間相互作用の役割を解明することを目的として、ヘッジホッグ（Hh）シグナル伝達系の解析を行った。Hh は動物胚のパターン形成に重要と考えられているシグナル分子であるが、本論文以前には、ホヤの Hh シグナルに関わる遺伝子群の発現については限られた情報しか知られていなかった。本論文では、カタユウレイボヤの胚発生過程および幼生期における Hh シグナル伝達系を構成する主要なタンパク質をコードする遺伝子の発現様式を解析し、Hh および Gli 遺伝子が幼生において特徴的なパターンで発現すること示した。さらに、Hh 遺伝子と Gli 遺伝子の発現調節領域を単離・同定し、これらを用いて、蛍光タンパク質 Kaede の光変換特性を利用した細胞標識を行い、Hh および Gli 遺伝子を発現する細胞の発生運命の追跡を行った。本研究は、ホヤの幼生および成体器官の発生過程において Hh 遺伝子または Gli 遺伝子が発現する細胞を初めて明らかにしたものであり、ホヤの器官形成における Hh シグナルの役割の解明に向けての基礎を築いた研究として評価できる。Hh 遺伝子が発現するホヤ幼生の体幹部前方背側の領域からは、内柱や咽頭をはじめとする種々の成体器官が形成され、脊椎動物の甲状腺や下垂体などとの相同性が指摘されているが、その細胞系譜等、発生過程の詳細は不明であった。Kaede を用いてこの領域の発生運命の追跡を行った本研究の結果は、これらの器官の発生機構を理解する上で重要な成果である。さらに本研究は、脊索動物の器官形成における Hh シグナルの役割とその進化について示唆を与える知見としても重要である。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 23 年 1 月 25 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査： 八田 公平 印

副査： 渡辺 憲二 印

： 樋口 芳樹 印

： 日下部 岳広 印

（甲南大学理工学部、教授）