

論文内容の要旨

申請者氏名 田所 竜介

ヤマトヒメミミズは非常に強い再生能力を持つミミズで、通常では自らの体を分断化したのち、失った体を完全に再生することで無性的に増殖している。この一方、飼育条件を変えてすることで有性生殖を行うようになる。この時、有性化ミミズの頭部7・8番目の体節には、無性個体には決して見られない生殖巣が形成される。これよりヤマトヒメミミズの頭部7・8番目には、生殖巣を形成する能力つまり生殖細胞などが存在すると推測されている。本論文は、ヤマトヒメミミズがこの生殖巣形成能が再生されること、この能力の実体と再生について詳細な解析を進めている。現在までに、動物の生殖細胞再生の知見はほとんどなく、また環形動物についても生殖細胞がどこからどのように再生されるのかという疑問が半世紀以上続いていた。

本研究はまず初めに、生殖巣形成能を持つ頭部を切除して、この能力が再生後に復活するか否かを調べた。再生完了後に有性化を誘導したところ、新たに再生した頭部7・8番目にも生殖巣が形成されることが示された。これより生殖巣形成能が再生しうることを示された。この能力の実体を明らかにすべく、本論文では他の動物種で生殖細胞に発現する *piwi* 遺伝子のホモログ遺伝子を単離し、分子マーカーに用いた。この結果、頭部7・8番目体節に *piwi* 発現細胞が存在すること、また詳細な発現解析から、これらの細胞が生殖巣形成能の実体“生殖細胞前駆体”であることが示された。さらに、これらの体節のみならず体幹部全体に生殖細胞前駆体を産み出す *Piwi* 発現幹細胞が分布している。自切等で頭部を失った場合、これら体幹部の *Piwi* 発現幹細胞が分裂移動して頭部7・8番目体節の生殖細胞前駆体を再生する様子を鮮明に捕えた。以上の結果から、謎に満ちていた環形動物の生殖細胞再生が明らかになってきた。またヤマトヒメミミズはネオブラストと呼ばれる幹細胞を体に備えているが、*Piwi* 発現幹細胞はネオブラストと別の細胞であることを、組織学的観察とネオブラストの追跡実験より明らかにした。これよりヤマトヒメミミズが体細胞性幹細胞と生殖系幹細胞を別々にリザーブしている可能性が示唆された。さらに今まで全く未知であった領域として、体細胞と生殖細胞は再生中に全く異なる挙動を示すという興味深い知見が得られている。

本論文の趣旨である生殖細胞再生に留まることなく、環形動物は再生研究全般においても意義深い。しかしながら、環形動物において研究のツールとなる遺伝子情報が極端に枯渇しているというのが現状であった。そこで、本論文では環形動物の再生研究の基盤ともなる遺伝子データベースを作成し、キーワードサーチができるなど、注目した分子を容易に検索できるように工夫している。またこのデータベースに Geneontology 解析を行い、それぞれに関わる生命現象ごとに分類している。加えて、再生時特異的に発現する遺伝子の cDNA ライブラリーをサブトラクション法により作成した。これらの遺伝子データベースは今後の環形動物研究に有用である。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 田所 竜介

研究の導入として、ヤマトヒメミミズを飼う中で申請者自ら生殖細胞が再生するという現象を探し出し、いかに生殖細胞が再生するのかという疑問にアプローチをした。ヤマトヒメミミズは日本で発見された新種のみみずで、強い再生能力を持つことから環形動物の再生現象の全般を研究する上で重要な動物である。また、飼育条件を変えることで実験的に有性生殖を誘導できることから、生殖細胞と再生というキーワードを関連させた研究が行える数少ない動物の一つである。動物の生殖細胞再生についてはほとんどが未知であり、古い組織学的な知見が残る環形動物においても、生殖細胞がどこから再生してくるのか、ましてや生殖細胞が再生中にどのような挙動をするのかなどは全く解明されていなかった。申請者は果敢にみみズの生殖細胞再生について解析を行った。

有性化を促されたヤマトヒメミミズが、その頭部7・8番目体節に生殖巣を出現させることから、無性生殖個体のこれらの体節に生殖細胞が潜んでいることが示唆された。申請者はまず初めに、これら頭部7・8番目体節を切除した実験より、生殖細胞が再生できることを間接的に示した。次に生殖細胞の観察を行うため、幅広い動物種で生殖細胞での発現が認められている *piwi* 遺伝子の相同遺伝子をヤマトヒメミミズで単離した。申請者は環形動物で初めて単離した *piwi* 遺伝子が性成熟個体の生殖細胞で発現することを示した。さらに、これを分子マーカーとして詳細な発現解析を行ったところ、無性生殖個体の頭部7・8番目体節にはいつでも有性化ができるように *Piwi* 発現生殖細胞前駆体が存在することが明らかとなった。また生殖細胞前駆体に加えて体幹部にも *Piwi* 発現細胞が分布していることを示した。驚くことに、これら体幹部の *Piwi* 発現細胞が再生のある時期に、分裂および再生組織内に侵入し、生殖細胞前駆体を作るべく頭部7・8番目体節まで移動してゆくことが示された。また申請者は形態学および細胞追跡を駆使して、既知の幹細胞（ネオブラスト）と体幹部の *Piwi* 発現細胞が全く異なる細胞種であることを示した。これより、ヤマトヒメミミズの体幹部には体細胞系の幹細胞とは別に、生殖系幹細胞が存在していることが分かってきた。このように申請者は、環形動物の生殖細胞がどこからどのように再生されるのかという、長年にわたり未知であった疑問に対して明快な結論を出している。さらに、再生中の生殖細胞と体細胞の挙動が大きく異なるという、極めて斬新かつ有意義な現象も発見している。この生殖細胞再生と平行して、申請者は、今後環形動物の再生研究に欠く事のできない遺伝子データベースの作成も行い、世界の環形動物の研究者に発信した。今後の環形動物の再生研究に大きく貢献することが期待される。

以上、本論文は環形動物の生殖細胞再生についての詳細を示した最初の論文であり、動物の生殖細胞再生の普遍原理や生殖の進化的な意味を知る上でも、極めて重要な知見を提供した。よって審査員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。