



脊椎動物頭部の発生と進化-板鰓類胚の組織形態観察と分子発生学的解析による脊椎動物頭部の理解-

足立, 礼孝

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2012-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5583

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005583>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(氏名：足立 礼孝 NO. 1)

「脊椎動物の頭部は体幹部のように分節しているのか？」という頭部分節性問題は、脊椎動物ボディプランの成立と脊椎動物の起源を理解する上で避けては通れない問題である。脊椎動物の体には同じ構造物が繰り返し並んだもの・分節構造が数多く見られる。例えば人体には椎骨や肋骨、肋間筋、脊髄神経などの分節構造が存在し、これらの分節パターンは発生時に見られる体節と呼ばれる上皮性中胚葉に由来することが知られている。骨格や筋肉はこの体節から派生し、脊髄神経はその原基である神経堤細胞が体節間に位置することで二次的に分節パターンを与えられるのである。しかし一方で、我々の頭部には椎骨のような構造物はなく、発生時にも体節に相当するような中胚葉分節ははっきりとは見られない。ところが、一部の羊膜類や魚類の頭部には発生の一時期に体節を彷彿とさせる上皮性体腔・頭腔が見られることが知られている。特にサメやエイなどの板鰓類胚には明瞭な 3 対の頭腔が咽頭胚期の頭部中胚葉内に観察され、さらに発生が進むと骨格と筋肉に分化するという体節との類似を示すのである。これらの観察を根拠に一部の比較形態学者は頭腔と体節を等価な分節であるとし、脊椎動物の頭部にも体幹部にも中胚葉分節が存在するものと考えた。当然のことながらこの考えは物議を醸し、板鰓類胚の頭腔は比較形態学者や進化発生学者にとって謎の存在であり続けている。

近年の比較ゲノム学の研究から脊椎動物と尾索動物ホヤ、頭索動物ナメクジウオを含む脊索動物の系統関係が明らかとなり、ナメクジウオが遺伝子レベルで祖先的脊索動物の特徴を保持している可能性が示唆された。面白いこと 100 年以上も前、形態に基づいて系統関係を推測していた時代にも、ナメクジウオ様の祖先から脊椎動物が進化したのではないのかという考えは既に存在していた。ナメクジウオの体には頭から尾まで筋節が見られ、これは発生時に見られる体節に由来する。つまり頭部にも体幹部にも中胚葉分節が存在するのである。そこでナメクジウオ胚の前方体節と板鰓類胚の頭腔を相同と考えると、脊椎動物の進化過程における 1 つの仮説が立てられる。つまり「脊椎動物の頭部は祖先的脊索動物の前部がわずかに変化したものに過ぎない」と。

このように過去の形態学者は板鰓類胚の頭腔と体節の類似を根拠に、ナメクジウオの頭部と脊椎動物の頭部が同じ構造から形成されているとし、脊椎動物初期進化過程においてボディプランの変更はなかったのではないかと考えた。果たして板鰓類胚の頭腔は体幹部の体節と等価な構造物なのであろうか？組織形態の比較では、両者は脊索の両側に並んで位置し、発生の一時期に上皮化し、体性運動神経支配の筋組織と骨格要素に分化するという共通点

(氏名：足立 礼孝 NO. 2)

が知られている。しかしながらその初期形成過程と、それを制御する遺伝子は両者の間で共通しているのかどうかは、未だに解明されていない。

本研究では上記の問題に対し、形成過程と遺伝子発現の比較により頭腔と体節が等価な構造物なのかどうか判断することを試みた。具体的には、神経胚期から咽頭胚期にかけてのトラザメ胚の形態観察による頭腔と体節の発生過程の比較、体節発生時に鍵となる遺伝子 (*Pax1*, *Pax3*, *Pax7*, *Pax9*, *Myf5*, *Sonic hedgehog*, *Patched2*) と、頭部中胚葉発生時に重要な遺伝子 (*Pitx2*, *Tbx1*, *Engrailed2*) の単離と発現解析を行い、頭腔が体節を思わせるような特徴を示すのかどうかを検証した。形態観察により、前体節中胚葉が前方から後方にかけて順に上皮化し体節形成が行われるのに対し、頭腔形成は分節していない間葉状中胚葉内に無作為に形成される小さい体腔の融合により一定の領域内で行われることが観察された。また 3 対の頭腔は体節のように前方から後方にかけて形成されるわけでもなかった。発現解析により、筋分化が体幹部に比べ頭部で遅れる事、筋分化・骨格形成を制御する遺伝子が頭腔と体節で異なることが明らかとなった。また遺伝子発現パターンは、上皮性体腔が見られその形態が体節を思わせるサメの頭部中胚葉においてさえも、その発生時に働く遺伝子は体節とは異なり、むしろ他の脊椎動物頭部中胚葉の結果と酷似していることが示された。

これらの結果から、板鰓類胚に見られる頭腔は祖先的脊椎動物の頭部体節の痕跡などではなく、一部の脊椎動物において新規に獲得された形質であることが示唆された。さらに脊椎動物の初期進化過程において祖先的脊索動物の頭部発生プログラム、そしてボディプランが変更された可能性をも示唆している。現在、主に研究対象とされている脊椎動物胚新規獲得形質、神経堤細胞とプラコードに加えて頭部中胚葉と頭部内胚葉の発生プログラムを解析し、これらの組織間相互作用を理解することが、脊椎動物頭部進化過程の解明に繋がるはずである。

氏名	足立 礼孝		
論文 題目	脊椎動物頭部の発生と進化 ～ 板鰓類胚の組織形態観察と分子発生学的解析による脊椎動物頭部の理解 ～		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	倉谷 滋
	副 査	教授	井上 邦夫
	副 査	教授	林 茂生
	副 査		
	副 査		印
要 旨			
ゲーテ・オーケンの頭蓋脊椎骨説に端を発する脊椎動物頭部分節性の問題は、脊椎動物の頭部が体幹部と同じ分節性を持つのか、そして、それを通じて脊椎動物のボディプランの起源に迫ることができるのかという、比較形態学の金字塔であったと同時に、脊椎動物のボディプランの起源を問ひかける現代の進化発生学の重要な問題でもある。本論文では、古典的な組織形態観察と現代の分子発生学的データを駆使し、頭部分節問題を新しい視点から見直そうとする意欲的なものである。 本論文は、第一章「序論」、第二章「材料と方法」、第三章「結果」、第四章「考察」、第五章「課題」から構成されている。 第一章では、200年に及ぶ頭部分節性問題の歴史的背景が3分野にまとめられている。頭部分節の構成については様々な仮説が唱えられたが、なかでも19世紀末に発見された顎口類胚の頭部中胚葉に見られる上皮性体腔、すなわち「頭腔」の存在が、論争の中心となった経緯が述べられる。この頭腔は、サメやエイなど板鰓類胚においてとりわけ顕著で、基本的に3対の上皮性中胚葉が脊索の両側に並び、筋組織と骨格要素を生み出し、さらに3対の体性運動神経との対応関係を示す。このさまは、頭腔があたかも頭部に発した体節であるかのような印象を与える。このような形態学的特徴こそ、多くの比較形態学者によって頭腔と体節が系列相同とされた所以で、これを根拠に板鰓類胚の頭腔と頭索動物ナメクジウオの前方体節が比較され、脊椎動物初期進化における発生的ボディプランの変遷が説明された。この章では、頭腔と体節の系列相同性の検証が、問題を解決する糸口になると説明され、本研究の目的を明示している。 第二章では、板鰓類胚の組織形態観察方法と分子生物学の基本である遺伝子単離及び発現解析方法を記述している。パラフィン切片と3次元再構築による組織形態観察は古典的な方法ではあるが、各発生段階を詳細に解析し、かつモデル動物で得られた細胞系譜の知見とすり合わせ、異なる視点からの板鰓類頭部中胚葉の解釈を可能にする。また板鰓類胚での遺伝子発現はこれまでほとんど観察されておらず、発現解析と組織形態観察を組み合わせることにより、過去の比較形態学者の知り得なかった情報を手にできると期待される。 第三章では、板鰓類胚の頭腔と体節を神経胚期から咽頭胚期まで観察し、その組織形態や			

氏名	足立 礼孝
位置関係の発生過程における動的な変化を詳細に記述している。その結果、体節は未分節間葉が前方から後方にかけて上皮化しながらくびり切れて形成されるのに対し、3対の頭腔は、無分節的な頭部中胚葉内に不規則なパターンで形成される小胞の融合により、一定の領域内に形成されることが示される。また、体節には皮筋節/筋節/硬節という典型的な分化過程がみられるのに対し、頭腔には内側脊索周囲に間葉をもたらすものの、典型的な皮筋節は観察されない。 さらに組織学的レベルの観察では分からない特徴を明らかにし、他の脊椎動物、脊索動物種との比較を可能とするため、遺伝子発現解析を行っている。その結果、筋分化開始の指標となる <i>Myf5</i> の発現が体幹部に比べ頭部で遅れること、筋分化・骨格形成を制御する遺伝子が頭腔と体節で異なることが示された。また他の脊椎動物の知見との比較により、遺伝子発現パターンは、上皮性体腔が見られその形態が体節を思わせるサメの頭部中胚葉においてさえも、その発生過程におけるそれは体節とは異なり、むしろ他の脊椎動物頭部中胚葉のものと酷似していることが明らかにされた。 第四章では、板鰓類胚の組織形態観察と遺伝子発現の結果と今までの知見とを総合し、脊椎動物頭部中胚葉の再解釈が試みられている。板鰓類胚の頭部中胚葉は、発生過程において徐々に、脊索両側に位置する頭腔の領域と咽頭内胚葉両側に位置する咽頭弓管の領域に分かれ、さらに、この領域化は体性運動神経支配の外眼筋と特殊臓性運動神経支配の鰓弓筋という解剖学的区分に対応することが示唆されている。これは他の脊椎動物胚頭部中胚葉の領域化と酷似している。つまり明瞭な頭腔の有無にかかわらず、顎口類の頭部中胚葉はおおむね同様の発生過程を示し、体節のそれとは異なると結論されている。そして、頭腔が顎口類の無分節的な頭部中胚葉間葉中に二次的に形成される体腔であると再定義している。 円口類の頭部中胚葉には不明な点が多く残り、その解析は今後の課題として第五章に述べられている。ヤツメウナギ頭部中胚葉に関して現在得られている知見、周辺構造物の影響による領域特異化と遺伝子発現パターン、外眼筋が発生するという諸事実は、恐らく頭部中胚葉の沿軸/腹側要素の区別は脊椎動物の共通祖先において成立していた可能性を強く暗示している。そして、脊椎動物頭部中胚葉に見られる上記のような遺伝子発現や中胚葉の領域化は、頭索動物ナメクジウオの前方体節に明瞭には見られず、脊椎動物の初期進化過程において祖先的脊索動物の頭部発生プログラム、そしてボディプランの変更が不可欠であったことが示唆されている。 以上のように、本研究では、頭部分節性問題の議論において重要な位置を占めてきた板鰓類胚頭腔の再解釈をなし、さらにこれをもとに脊椎動物頭部の進化過程を解明するための重要な知見を提示し、価値ある知見の集積をものしたと認める。よって、学位申請者の足立礼孝は、博士(理学)の学位を得る資格があると認めるものである。	