



ヌタウナギの頭部発生から脊椎動物の頭部形態の進化を読む

大石, 康博

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2013-03-25

(Date of Publication)

2013-06-07

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5717

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005717>

※ 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。



博士論文

ヌタウナギの頭部発生から脊椎動物の頭部形態の進化を読む

平成 25 年 1 月

神戸大学大学院理学研究科

大石 康博

目次

序論

.....4

- 1.1 ヌタウナギとヤツメウナギの系統関係
- 1.2 ヌタウナギの頭部形態と発生
- 1.3 脊椎動物の下垂体発生の分子機構と由来
- 1.4 ヤツメウナギと顎口類の鼻下垂体構造の相違
- 1.5 本研究の目的

第2章

材料と方法

..... 9

- 2.1 性成熟したヌタウナギ成体の準備
- 2.2 ヌタウナギの胚発生の観察
- 2.3 ヌタウナギの詳細な胚発生の観察
- 2.4 ヌタウナギ胚の解剖
- 2.5 ヌタウナギ胚の固定
- 2.6 ヌタウナギ胚の組織学的な観察
- 2.7 ヌタウナギ胚の *in situ* ハイブリダイゼーション
- 2.8 遺伝子の単離
- 2.9 ヤツメウナギ胚のサンプリング
- 2.10 ヤツメウナギ胚の神経系の観察
- 2.11 サメ胚のサンプリング
- 2.12 Avizo を利用した三次元構築

第3章

結果

.....16

- 3.1 ヌタウナギの腺性下垂体の由来：組織学的解析
- 3.2 ヌタウナギの腺性下垂体の由来：遺伝子発現の観察
- 3.3 索前内胚葉の発生
- 3.4 NHP の発生
- 3.5 ヌタウナギとヤツメウナギの頭部構造の相同性：口鼻領域
- 3.6 円口類と顎口類の頭部構造の比較
- 3.7 ヌタウナギとヤツメウナギの咽頭領域の相同性
- 3.8 ヌタウナギとヤツメウナギの縁膜の相同性
- 3.9 ヌタウナギ胚の後期発生

第4章

考察

.....25

- 4.1 脊椎動物の腺性下垂体の進化
- 4.2 円口類の共有する頭部発生パターン
- 4.3 ヌタウナギの後期発生過程の改変
- 4.4 脊椎動物の頭部構造の進化

謝辞.....29

参考文献.....	30
-----------	----

写真図版.....	37
-----------	----

第 1 章

序論

1.1 ヌタウナギとヤツメウナギの系統関係

最近の分子系統学的な研究成果から、現生の無顎類であるヌタウナギとヤツメウナギは、脊椎動物の最も原始的な系統である円口類（cyclostomes）を構成すると考えられている（Mallat and Sullivan, 1998; Kuraku et al., 1999; Takezaki et al., 2003; Kuraku, 2006, 2008; Heimberg et al., 2010）。現生のほとんどの脊椎動物である顎口類（gnathostomes）は、上下に開閉する顎と、対を成す鼻孔で特徴づけられる（図 1h-j; Janvier, 1996）。それに対して、円口類は、顎のかわりに丸い口を持ち、正中に 1 つの鼻孔をもつ（図 1 a-g; Janvier, 1996）。しかし形態学者の見解は、分子系統学が提示した系統関係とは矛盾しており、最初にヌタウナギがヤツメウナギ、顎口類の共通祖先から分かれ、その後、ヤツメウナギが顎口類から分かれたと考えてきた。つまり、ヌタウナギは現生するもっとも原始的な動物であり、むしろヤツメウナギと顎口類が近縁であるというものである（Janvier, 1996; Forey and Janvier, 1993; Gess et al., 2006; Khonsari et al., 2009）。

このように考えられてきた根拠としては、ヌタウナギが、脊椎動物を特徴づけるいくつかの形質を欠いていることがある。例えば、ヌタウナギの成体は明瞭な背骨や側線器官、眼のレンズを持たない（Janvier, 1996; Forey and Janvier, 1993; Gess et al., 2006）。しかしながら、現生する動物はそれぞれ独自の進化を遂げており、祖先の形質をそのまま残しているわけではない。しばしば、進化の過程で変容した形質の中には、成体では見られなくとも、動物がまだ胚のころにのみ現れるものもある。そこで比較発生学的にヌタウナギの形態を検証する必要があるが、ヌタウナギは深海性で、ヤツメウナギや顎口類と比較して生殖に関する生理や生態がほとんどわかっていない。そのため、ヌタウナギの発生に関する情報は限られたものであった。

ヌタウナギの発生学的研究の基盤（受精卵を得る方法、組織学的、分子生物学的な

実験の系) が確立されたのは 2007 年のことである。その成果として、ヌタウナギの胚が、脊椎動物の体制を特徴づける移動性の神経堤細胞を分化し (Ota et al., 2007)、さらに背骨の原基となる硬節細胞を持つことが明らかになった (Ota et al., 2011)。また、以前の研究からヌタウナギの胚は、レンズプラコード (眼のレンズの原基)、側線プラコード (側線の原基) と側線神経を持つことが報告されていた (Stockard, 1909; Wicht and Northcutt, 1995; Braun and Northcutt, 1997)。このように、ヌタウナギの原始的とみなされた形質の多くが、二次的な変形や消失に基づくことが示唆され、形態学的にも円口類説が受け入れられはじめている (Heimberg et al., 2010)。

1.2 ヌタウナギの頭部構造と発生

円口類説に基づくと、ヌタウナギとヤツメウナギの頭部形態を比較することで、円口類の共通祖先の姿を推定し、初期の脊椎動物の頭部構造の進化の理解に繋がると期待される。しかし、成体のヌタウナギとヤツメウナギの頭部構造は下記のような点で著しく異なるために、解剖学的比較は容易ではない (図 2)。

- (1) ヌタウナギの鼻孔は正面に開くが、ヤツメウナギでは背側に開く (Janvier, 1996)。
- (2) 鼻腔 (鼻下垂体腔) はヌタウナギでは水平だが、ヤツメウナギでは垂直に近い (Janvier, 1996, Strahan, 1985)。
- (3) 縁膜 (呼吸器官) はヌタウナギで水平方向に位置するが、ヤツメウナギでは垂直 (Janvier, 1996, Strahan, 1985)。
- (4) 鼻腔はヌタウナギでは後端で咽頭につながるが、ヤツメウナギのそれは咽頭とは独立した盲嚢である (Goodrich, 1909, Janvier, 1996, Strahan, 1985)。
- (5) ヤツメウナギでは口腔に続いて鰓が配置されるが、ヌタウナギでは鰓はずっと後方の体幹の中央部に位置する (Janvier, 1996)。

また他の脊椎動物の腺性下垂体は外胚葉に由来するのに対し、ヌタウナギの腺性下垂体は、原始的な脊索動物であるナメクジウオにおける腺性下垂体に相当する構造 (ハチェック窩) と同様 (Candiani et al., 2009; Schlosser, 2005)、内胚葉の領域に由来すると報告されている (Fernholm, 1969; Gorbman, 1983; Gorbman and

Tamarin, 1985; Bjerring, 1989; Wicht and Tusch, 1995; Soukup, 2012)。しかし、ヌタウナギ胚の腺性下垂体の由来を含む頭部構造の発生学的な知見が十分でないことは明らかである。

1.3 脊椎動物の下垂体の分子機構と由来

形態学的にヌタウナギの成体が他の脊椎動物と同様な下垂体の構造をもつことは、古くから知られていた (Fernholm, 1969)。全ての脊椎動物において、下垂体は、腺性下垂体と神経性下垂体の2つの領域からなり (図 1 c, g, j)、それぞれ隣接する外胚葉性の肥厚(下垂体プラコード)と前脳下部に位置する視床下部から生じる。近年の、ES 細胞の試験管内での分化系を用いた実験から、下垂体プラコードの発生・分化には視床下部からの誘導が必要であることが示されている (Suga et al., 2011)。つまり脊椎動物において、視床下部の腺性下垂体の誘導作用に裏付けられた下垂体の発生機構の保守性が期待される。視床下部には *Shh*、*Nkx2.1* が発現し、視床下部と下垂体プラコードの発生に必須である (Takuma et al., 1998; Treier et al., 2001)。一方で、腺性下垂体には、*Pitx2*、*Lhx3/4* が発現する (Charles et al., 2005; Sheng et al., 1996; Jean and Gruss, 1999, Schlosser, 2005)。*Pitx1/2* は発生の初期より、頭部の前部下下垂体プラコードと口腔を含む外胚葉領域に発現する。この *Pitx1/2* と *Shh* (視床・脊索に由来する分泌因子) が下垂体プラコードの分化に必須である *Lhx3* の発現に関与することが分かっている (Charles et al., 2005; Suga et al., 2011)。ヤツメウナギにおいても、同様の遺伝子発現のパターンが見出されることから (Uchida et al., 2003)、この下垂体の発生機構は顎口類のみならず、広く脊椎動物全般に共通のものらしい。これまでヌタウナギ胚の腺性下垂体の原基を遺伝子発現レベルで同定し、さらに全ての脊椎動物の外/内胚葉境界である口咽頭膜に対する、腺性下垂体原基の位置を詳細に確認した報告はなかった。

1.4 ヤツメウナギと顎口類の頭部構造の相違

ヤツメウナギと顎口類の頭部は、その発生途上から形態学的に異なるパターンを示

すことが知られている。中でも、鼻プラコードと下垂体プラコード（嗅上皮と腺性下垂体の原基に相当する外胚葉性の肥厚）の位置関係が重要である。ヤツメウナギでは、鼻と下垂体のプラコードが連続した鼻下垂体板（nasohypophyseal plate; NHP）を形成する。顎口類では2つの鼻プラコードと下垂体プラコードが離れて位置し、対の鼻孔を形成する。また下垂体プラコードは二次的に口腔に取り込まれる（図 1j）。これに対して、ヤツメウナギの NHP は、1つの鼻孔につながる鼻腔（鼻下垂体腔）を形成する。そして鼻腔の背側に、無対の嗅上皮と腺性下垂体が形成される（図 1g）。

ヌタウナギも NHP 様の構造を持つことが報告されている（Kupffer, 1901）。またヌタウナギの成体は1つの鼻孔をヤツメウナギ同様にもつが、一方で、その鼻腔の後端部が咽頭につながり、ヤツメウナギとは共有しない構造をなす（図 1c, 2）。これまでヌタウナギとヤツメウナギの鼻・下垂体構造の発生の過程が、詳細に比較されたことはなかった。

1.5 本研究の目的

以上から、本研究ではまず、ヌタウナギの腺性下垂体の由来を明らかにするために、腺性下垂体の原基と口咽頭膜の位置関係を観察した。そしてヌタウナギの鼻・下垂体および関連する顔面構造をヤツメウナギ、顎口類胚と比較発生学的に解析し、ヌタウナギとヤツメウナギに共有され、顎口類とは異なる「汎円口類パターン」の同定を試みた。そして分子系統学と化石記録から提示された系統樹に基づいて、古生代の化石魚類の頭部構造の知見を考慮し、初期脊椎動物の頭部構造がどのように進化してきたのかを考察した。

第2章 材料と方法

2.1 性成熟したヌタウナギ成体の準備

島根県江津沖でアナゴ量の仕掛けにより獲得されたヌタウナギ (*Eptatretus Burgeri*) 成体の雌雄を、その繁殖期である 8~10 月に、錘をつけた籠に入れ、水深 70 メートルに沈めて飼育した。また採取したヌタウナギの一部は、「株式会社せきかつ」より購入した成体の雌のヌタウナギとともに、水温 16℃前後で光を遮断した水槽中にて飼育した (Ota et al., 2007)。10 月下旬~11 月初旬、雌のヌタウナギが産み落す卵を回収した。

2.2 ヌタウナギの胚発生を観察

採集した卵を、11 月~翌年 1 月にかけて、16℃の水槽内で培養した。人工の飼育では未受精卵と受精卵が含まれる。1~2 ヶ月おきに腐敗し始めた未受精卵を確認し、取り除いた。1 月以降、LED スタンドで、卵に垂直に光を当てることで、卵黄を覆う胚板を観察した。胚の尾部は発生が進むにつれ後方に伸長する。この *E. burgeri* 胚の形態は、Dean (1899) の記載した *M. glutinosa* のそれぞれの発生段階のスケッチと類似していた。そこで、*E. burgeri* 胚の長さ、形態的な特徴に基づいて、*M. glutinosa* のスケッチの番号に沿って、ステージを暫定的に決定した (表 1, 図 3, 4)。

卵は産み落とされてからの日数の記録を取ったが、同じ時期に生まれた卵でも発生ステージの変動が大きかった。そこで発生の実時間を記録するために、一部の試料に関しては一定期間おきに、胚発生を確認した (図 3)。ヌタウナギ胚は発生が進むにつれて血管が発達し、作業中に破れてしまう危険性が伴うため、細心の注意を払って撮影を行った。

2.3 ヌタウナギの詳細な胚発生の観察

2.3.1. 神経胚期（ステージ 25, 26, 28, 30）

神経胚中期（ステージ 25, 26）

ステージ 25（産後 114 日；図 4a）の胚において神経管形成は完了しておらず、神経板の正中部はまだ開いている（図 13a）。ステージ 26（産後 135 日；図 4b）において神経板は完全に閉鎖している。組織切片から、脳の領域は大まかに前中脳原基と後脳原基に識別される（図 16l）。また後の内耳原基（耳プラコード）の位置に浅い窪みが観察され、耳窩の発生を示していた。

神経胚後期（ステージ 28, 30）

ステージ 26 から 28 にいたる発生時間はおおよそ 5 日である（図 3d, f）。ステージ 28（産後 145 日；図 4c）、30（産後 139 日；図 4d）の胚において、前脳、中脳、後脳が明瞭に区別される。3D 復元を行うと、腹側へ褶曲した前脳前方の吻端部には側方にわずかに膨らんだ眼胞が観察された（図 13d, f）。頭部の前端では前後に伸びた心臓の原基が観察された。耳プラコードは前のステージよりも陥入している。その周囲には三角状に広がる咽頭が観察された。ステージ 28 では 4 つの咽頭嚢の発生が観察される（図 16j）。また耳胞の後方には体節の発生が観察された。

2.3.2. 咽頭胚期（ステージ 35, 40, 45, 50, 51, 53）

咽頭胚初期（ステージ 35）

ステージ 28 から 35 にいたる発生時間はおおよそ 5 日である（図 3a, c）が、15 日かかっている胚も記録されている（図 3d）。ステージ 35（産後 154 日；図 4e）では、脳褶曲が顕著となり前脳の視床下部は後方に突出しているのが観察された。また、神経管には、ロンボメアなど領域特異的な分節が観察された（図 17d,e）。耳プラコード

は陥入し、明瞭な耳胞を形成する。このステージでは4–5つの咽頭嚢が観察される(図 17e)。

咽頭胚中期 (ステージ 40, 45, 50)

ステージ 35 から 40 にいたる発生時間はおおよそ 8 日である(図 3c, d, e)。ステージ 40 (産後 126 日; 図 4f, j) においては、ロンボメアが明瞭に区別され、その偶数番目からは特定の脳神経が生じているのが観察される(図 24a, b)。また、このステージでは、6つの咽頭嚢を確認される(図 23f)。ステージ 40 から 45 にいたる発生時間はおおよそ 7~8 日である(図 3c, d)。ステージ 45 (産後 127 日; 図 4g) においては、心臓の拍動が観察される。形態的な特徴はステージ 40 と類似するが、このステージでは7つの咽頭嚢が観察される(図 23g)。ステージ 50 (産後 145 日; 図 4h) においては、脳の褶曲がより顕著になり、咽頭の幅が狭くなる。この時期には9つの咽頭嚢が観察される(図 23h)。

2.3.3.咽頭胚後期 (ステージ 51, 53)

ステージ 51 (産後 195 日; 図 4i, k) では頭部の肥大が明瞭である。この時期咽頭嚢は後方へ移動している。前方の第2ならびに第3咽頭嚢は退縮しているため観察が難しい。三次元復元により、左に9つ、右に5つの咽頭嚢が確認でき、この左右差が正常な発生によるものか、異常な形質なのかは確認できず、今後の観察が必要である(図 23i)。ステージ 53 (産後 195 日; 図 4l, m) では、咽頭嚢の2、3は完全に消失し、第4以降の咽頭嚢が鰓(鰓嚢)を心臓の前方に形成していた(図 22j)。頭部の前方部においては縁膜やヌタウナギの特徴である4対の触手の突起が観察された。

2.4 ヌタウナギ胚の解剖

以前の研究から、卵殻つきのままヌタウナギ胚を固定すると、胚が卵黄に圧迫され、組織に歪が生じることが指摘されていた(Gorbman, 1983; Ota et al., 2007)。そこで、胚は卵殻を取り除いた後に、固定した(Ota et al., 2007)。咽頭胚中期までの胚は、

卵の後端に達していない。そのため、海水で満たしたシャーレ内で、後端を解剖ナイフで切り取り、ピンセットを用いて卵膜をつまみ、胚を取り出すことができる。咽頭胚後期以降では、尾や頭部の位置に注意しつつ卵殻の腹側面を切りとり、上と同様の方法で胚を取り出した。

2.5 ヌタウナギ胚の固定

組織切片、*In situ* ハイブリダイゼーション、抗体染色のため、胚を殻から取り出した後、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液（以下 PFA/PBS）およびセラの固定液で固定した（Schneider, 1999）。

2.6 ヌタウナギ胚の組織学的な観察

通常、卵黄のような脆い組織を含む組織切片から形態を温存した薄切り切片を作成するのは非常に困難である。そこで、多量の卵黄を含むヌタウナギ胚から、形状を保持した連続切片を作成するために、川本法を利用した（Kawamoto, 2000, 2003）。この方法では、特殊な粘着フィルムを使用することで、従来の方法では作成困難な試料からも、容易に形状が保持された切片を作成することが可能である。まず、転写フィルムをパラフィンブロックに貼り付け、ゆっくりと一定速度で切削した。続いて、転写フィルムの切片面とスライドガラスを 45℃の温水に入れ、約 10 秒後にゆっくりと引き上げ、切片をスライドガラスに密着した。そして、ホットプレート（50℃）にスライドガラスを置き、6～12 時間乾燥した。乾燥後、スライドガラスをキシレン中に浸漬し、パラフィンと粘着剤を溶解除去した。プラスチックフィルムが自然に剥がれ落ちるまで放置した（1～3 日）。この方法で作成された切片は、組織学的観察にも *in situ* ハイブリダイゼーションにも利用することが可能である。

2.7 ヌタウナギ切片の *in situ* ハイブリダイゼーション

ヌタウナギの切片の *in situ* ハイブリダイゼーションについては、手動およびベントナ社（現 Roche）製、自動 *in situ* ハイブリダイゼーション装置、Discovery® XT

により行った。手動プロトコールについては、切片を 4%PFA/PBS において室温で 10 分間固定した。続いて PBS で二度洗い、Protein kinase を混ぜた 0.01 M Tris 緩衝液を 37°C で 10 分間処理し、再固定のために 4%PFA で 10 分間固定した。そして、スライドを PBS で二度洗った後、0.25%の無水酢酸と 0.1 M トリメタノールアミン (pH8) において 10 分間処理した。スライドを風乾させた後、プローブを 51°C で 16–20 時間ハイブリダイズさせた。その後、不要なプローブを取り除くために、切片を、5×SSC に入れ替え、55°C で 20 分間処理した。後に、50%ホルムアミドを含む 2×SSC に入れ替え、55°C で 20 分間処理した。2×SSC、0.2×SSC に入れ替え 60°C で 5 分ずつ処理した。0.1 M Tris buffer (pH7.6) に 0.15M NaCl に 1.5%のブロッキング試薬を溶かし、30 分ブロッキングを行った。その後、アルカリフォスファターゼ標識 anti-Dig antibody を 2 時間反応させた。反応の後、余分な抗体を洗い流し、nitroblue tetrazolium (NBT) と 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate toluidinium salt (BCIP)を浸透させ、常温で、アルカリフォスファターゼ活性の発色を 1~2 日後に確認した。

2.8 遺伝子の単離

ステージ 25 から 50 の胚から TORIZOL reagent (Invitrogen) を用いて total RNA を単離した。RT-PCR により *EbPitxA*, *EbSix3/6A*, *EbFgf8/17*, *EbHh1*, *EbTbx1/10A*, *EbSoxB1*, *EbLhx3/4A*, *EbNkx2.1* の断片を得た。

得られた PCR 断片を pCRII-TOPO ベクター (invitrogen) にサブクローニングし、配列を 3130 sequence analyzer (ABI) で解析した。得られた配列は GenBank に登録した (accession number; AB703678-AB703682, AB729075-AB729076, AB747372)。新たに同定したヌタウナギの遺伝子のオーソロジーを確認するため、NCBI protein database および Ensemble Genome Browser からホモログな配列を得、CLUSTALW のプログラムを利用してマルチプルアライメントを行った。このアライメントに基づき、各遺伝子に特異的なアミノ酸残基やモチーフを同定した (図 5-12; Thompson et al., 1994)。

2.10 ヤツメウナギ胚のサンプリング

成熟した雌雄のカワヤツメ *Lethenteron japonicum* は、10%Steiner's 溶液の中で人工授精させた。カワヤツメ胚のステージは、Tahara (1988) による近縁種の水河川性のスナヤツメ、*Lethenteron reissneri* のステージを参考にした。*L. japonicum* は 4% PFA/PBS にて、4℃で一日固定した。それから試料は、メタノール/PBS から段階的な脱水を経て、100%メタノール置換したのちに-20℃で保存した。

2.11 カワヤツメの神経系の観察

-20℃で保存された試料を段階的に水和させ、5%DMSO、0.1%Tween20 を含む Tris-buffered saline (TBST) で徐々に再加水化、TBST に置換した。その後、5%ドライミルクを含む TBST でブロッキングした。一次抗体 (monoclonal anti-acetylated tubulin antibody, No. T6793, Sigma) を 1000 分の 1 の濃度に TSTM に希釈し、4 日間浸透させた。TBST で 10 回ほど 2 日かけて洗浄した後、二次抗体 (Alexa Flour 488-conjugated goat anti-mouse antibody, No.A11001, Invitrogen) を 1000 分の 1 に TSTM に希釈し、2 日間浸透させた。TBST で洗った後、胚をメタノールで段階的に脱水し、1:2 の benzyl alcohol と benzyl benzoate の混合溶液(BABB)へ入れ透明化する。さらに蛍光 DiI (Cell Tracker CM-DiI, Invitrogen) を加え、細胞膜と核膜を対比染色した。その後、DABB で不要な DiI を洗った後、共焦点蛍光顕微鏡 LSM-710 (Zeiss) で、胚全体像 (DiI) と神経 (抗体染色) を交互に撮影した。

2.12 サメ胚のサンプリング

サメ (*Scyliorhinus torazame*) 胚は、16℃の水槽において成熟した成体の雌雄を飼育、また下関海響館、寺泊水族館の提供により得た。サメの胚のステージについては、Adachi and Kuratani (2011)、Ballard et al (1993) の先行研究を参考にした。サメ胚の切片は、ヌタウナギ同様に川本法により作成した。

2.13 Avizo を利用した三次元構築

ヌタウナギとサメの切片に関しては、光学顕微鏡に備え付けたデジタルカメラ DP70 (Olympus Corporation) で撮影した。撮影された切片 (200-1200 枚) は、AVIZO (Visualization Science Group) のソフトウェアを利用して三次元構築した。AVIZO の設置にあたっては、「(株) マックスネット」のアドバイスを受けた。特に多くの切片を扱う場合は、パーソナルコンピュータの機能が重要である。本体には、Precision T7500 (Dell) を利用した。このモデルでは、後に説明するメモリの増設が容易である。重要なパーツはメモリとグラフィックカードである。(1) メモリ：メモリは画像の取り込みおよび三次元構築の処理に関して必要である。例えば、9MB の切片を 500 枚処理すると、 $9\text{MB} \times 500 = 4.5\text{GB}$ なので、メモリが 4GB では処理することが出来ない。(2) グラフィックカード：グラフィックカードは、3D モデルを表示するときの速度に影響する。三次元モデルは小さな三角形で構成されており、その三角形の数が 500 万個を超えると、処理が遅くなる。しかし、実際の表示には 100 万面もあれば十分精細なモデルが作成できる。そのため、三角形の数を減らす処理をほどこせば、グラフィックメモリが小さくても可能である。基本的には、512MB 以上あるのが理想である。

第3章 結果

3.1 ヌタウナギの腺性下垂体の由来：組織学的解析

ヌタウナギの腺性下垂体の由来を明らかにするために、まずすべての脊椎動物の頭部の外/内胚葉境界を形成する口咽頭膜をヌタウナギ胚において同定した。そして口咽頭膜に対する、腺性下垂体の原基を含む口鼻下垂体腔（後の鼻腔と口腔を含む領域）の位置を調べた。

神経胚中期（ステージ 25）では、他の脊椎動物胚と類似した頭部の構造が観察された。神経管の下部は中胚葉性の脊索により占められる。この脊索の前端では、中胚葉と内胚葉が癒合した領域である脊索前板（*prechordal plate*; *prp*）が形成された。この神経管の前端（将来の前脳）では、脊索前板の前方で外/内胚葉の上皮が隣接した領域が窪むことで形成された、口窩（*stomodeum*; *st*）が観察された（図 13a, b, 14a）。口窩は前脳の成長に伴って陥入し、神経胚後期（ステージ 28）では、その後端部に口咽頭膜（*oropharyngeal membrane*; *opm*）が形成された（図 13c, d, 14b）。後の口鼻下垂体腔（*oronasohypophyseal cavity*; *onc*）は口咽頭膜の前方に、外部と連絡した腔として形成されることから、外胚葉由来であることが確認された。

つづいて口鼻下垂体腔は、前脳の前端付近において上下の向かい合う外胚葉上皮が正中中央へ向かって癒合することにより、外部との連絡を失った（白と黒矢印; 図 13c, e-h, 15a, b）。この外胚葉性の褶曲は、口鼻下垂体腔を前方で閉塞する二次的な膜（二次口咽頭膜; *secondary oropharyngeal membrane*; *som*; Kupffer, 1900）を形成するに至った（図 13i）。以前の報告では、この二次口咽頭膜が口咽頭膜であると誤って同定され、結果、口鼻下垂体腔は内胚葉に由来するとみなされたという経緯がある（図 15c; Gorbman, 1983）。しかし、本研究で同定された口鼻下垂体腔は、既述のように真の口咽頭膜の前方に位置する、完全に外胚葉に由来する構造である（図 13i-l, 14d, e）。

神経胚中期において明瞭な二重層を形成する口咽頭膜は、咽頭胚中期に癒合し、さらに消失する（図 14d, e）。そのため、以降のステージでの外/内胚葉の境界の推定

は、他のすべての脊椎動物と同様に、口咽頭膜の後方に発生する第1咽頭嚢の位置により行った。(p1; 図 13k, m, o)。中期咽頭胚～後期咽頭胚期において、前述の口鼻下垂体腔は、鼻腔（鼻下垂体腔）と口腔に分かれる（図 13m-p）。またその上部からは嗅上皮と腺性下垂体が生じた（図 13o, p）。これらの結果から、ヌタウナギの腺性下垂体は外胚葉に由来すると思われた。

3.2 ヌタウナギの腺性下垂体の由来：遺伝子発現の観察

ヌタウナギの胚における、腺性下垂体の原基（下垂体プラコード）の発生する位置をさらに明らかにするため、他の脊椎動物の下垂体の発生に関連する遺伝子の発現を *in situ* ハイブリダイゼーションにより解析した。その上で、下垂体プラコードの由来を調べるために、その口咽頭膜との位置関係を調べた。

現在まで調べられた全ての脊椎動物において、下垂体は神経性下垂体と腺性下垂体よりなる。そのうち、神経性下垂体の発生には、前脳腹側に位置する視床下部領域での *Shh/Nkx2.1* の発現が必須であることが分かっている (Takuma et al., 1998; Treier et al., 2001)。そこで、ヌタウナギから1種類の *Shh*、ならびに *Nkx2.1* の相同遺伝子をクローニングし、それぞれ *EbHh1*、*EbNkx2.1* と名づけ（図 5, 6）、それらの発現解析を行った。

EbHh1 は、前脳腹側の視床下部、脊索前板および口咽頭膜の内胚葉の領域に発現する（図 16k）。*EbHh1* と同様に、*EbNkx2.1* もまた視床下部の領域で発現する（図 16l, m）。加えて、他の脊椎動物で視床下部の前方に生じる視交叉との位置関係を明らかにするため、視交叉に発現する *Six3/6* のヌタウナギの相同遺伝子の単離を行い、*EbSix3/6* と命名した（図 7）。この *EbSix3/6A* の発現を解析したところ、視床下部の前方の視交叉の領域で発現した（図 16f, g）。

他の脊椎動物において、視床下部に隣接して発生する下垂体プラコードには、*Pitx2* と *Lhx3* の発現が報告されている。*Pitx2* は口腔と視床下部に隣接する下垂体プラコード（腺性下垂体原基）に発現し、*Lhx3* の遺伝子発現に関与し、共に腺性下垂体の発生に関与する (Charles et al., 2005; Sheng et al., 1996)。そこで、ヌタウナギから

Pitx2、ならびに *Lhx3/4* の相同遺伝子をクローニングし、それぞれ *EbPitxA*、*EbLhx3/4A* と命名した (図 8, 9)。これらの遺伝子発現を解析したところ、他の脊椎動物と同様に、*EbPitxA* は口咽頭膜の前方の口腔と下垂体プラコードに発現した (図 16a, b)。つづいて、*EbLhx3/4A* は下垂体プラコードの少数の細胞において発現した。(図 16c)。

このヌタウナギの下垂体プラコードは、口咽頭膜の前方に位置しており (図 16n-q)、つづいて、視床下部に隣接した下垂体プラコードからは、たしかに組織学的に同定可能な腺性下垂体が生じた (図 13o, p)。これらの結果から、ヌタウナギの腺性下垂体は、他の脊椎動物と同様の遺伝子発現機構で、外胚葉に由来することが示唆された。

3.3 索前内胚葉 (索前板ならびに口前腸) の発生

以前の研究では、ヌタウナギの腺性下垂体は、脊索前端の内胚葉性の肥厚に由来すると報告された (Gorbman, 1983)。それをうけ、ヌタウナギの内胚葉細胞が腺性下垂体の形成に関与するかを調べた。組織学的には、現生顎口類において上の内胚葉部位に相当する領域には、脊索原基と咽頭内胚葉が未分化な状態にある、いわゆる脊索前板が位置する (van Wijhe, 1882; Gilland, 1992; Adachi and Kuratani, 2012)。脊索前板は *Hh* を発現し、発生に重要な役割を果たす (Treier et al., 2001; Sugahara et al., 2011)。また、顎口類においては、*Six3/6* が脊索前板のマーカー遺伝子として、一般には認識されている (Jean and Gruss., 1999)。そこで、これらのヌタウナギの相同遺伝子である *EbHh1*、*EbSix3/6A* の発現パターンと組織学的な解析をおこなった。

ステージ 25 では、視床下部に、咽頭内胚葉と脊索の前端の癒合した領域が、隣接しているのが観察された (pcp; 図 13b, 14a)。ステージ 26 では、この内胚葉性の肥厚は *EbHh1*、*EbSix3/6A* を発現した (図 16k, f)。以上の、組織の位置関係と遺伝子発現のパターンから、以前に報告された内胚葉性の肥厚は、他の脊椎動物における脊索前板 (prechordal plate) に相当することが示唆された。

ヌタウナギ胚のステージ 35~40、脊索前板は背側へ突出した袋状の肥厚を形成し、視床の後端に隣接する (図 17d)。また視床の両側面へ索状の突起を形成する (黒矢

印; 図 17d-g)。その位置は、顎口類およびヤツメウナギに観察される脊索前板に位置する索前中胚葉に類似している (図 17a-c; Kuratani et al., 1999; Adachi and Kuratani, 2012)。ヌタウナギの背側へ膨出した脊索前板は、視床に隣接し、顎口類の下垂体プラコードに類似した位置を占める (図 13i, j)。しかし、ステージ 45 では、この肥厚は視床から離れ (図 13k, l, 17h, i)、ステージ 50 では消失する (図 13m, n)。以上の結果、ヌタウナギの内胚葉性細胞は、腺性下垂体の形成には関与しないことが分かった。これら全ての結果から、ヌタウナギの腺性下垂体は他の脊椎動物同様に、外胚葉細胞のみに由来することが明らかとなった。

3.4 NHP の発生

脊椎動物の腺性下垂体の原基 (下垂体プラコード) と、嗅上皮の原基 (鼻プラコード) の位置関係は、円口類と顎口類の頭部パターンの相違に深く関与している可能性がある。ヤツメウナギは、鼻と下垂体プラコードが連続した鼻下垂体板

(nasohypophyseal plate, NHP) を形成する。一方で、顎口類では 2 つの鼻プラコードと下垂体プラコードが分離している。以前の研究で、ヌタウナギの胚にも NHP に相当する構造が観察されると報告されていた (Kupffer., 1900)。そこで、ヌタウナギの鼻プラコードと下垂体プラコードの発生パターンをより詳細に調べることにした。

以前に報告されたように、ヌタウナギ胚の前脳下部の外胚葉は一様に肥厚し、ヤツメウナギの NHP に類似した構造を形成していた (図 13d)。またこの肥厚は、左右に連続しており、口鼻下垂体腔からレンズプラコードおよび耳プラコードの領域へ続いている (図 16j)。組織学的な位置関係から、このヌタウナギ胚に観察される外胚葉性肥厚は、顎口類に観察されるプラコードの複合体 (Schlosser, 2005) に相当する構造であると思われる。

Fgf8/17 は顎口類の鼻プラコード、あるいはヤツメウナギの NHP の前方部に発現し (Maruoka et al., 1998; Uchida et al., 2003)、その領域形成に重要な役割を果たす (Bailey et al., 2006)。そこで、ヌタウナギから *Fgf8/17* 相同遺伝子をクローニン

グシ、*EbFgf8/17*と名づけた（図 10）。この遺伝子の発現解析を行ったところ、*EbFgf8/17*は NHP の前方部に強く発現する（図 16d, e）。一方、ヌタウナギの下垂体プラコードに発現する *EbPitxA* は、NHP の後方部で発現する（図 16a, b, d, e）。また、顎口類で鼻・下垂体プラコードの両方で発現することが知られる *Six3/6*, *Sox2/3*（Jean et al., 1999; Schlosser, 2005）のヌタウナギの相同遺伝子、*EbSix3/6A*, *EbSoxB1*（図 11）は NHP の全域に発現する（図 16f-i）。これらの結果は、ヌタウナギにおいても鼻プラコードと下垂体プラコードが連続し、NHP を形成していることを示唆した。

またヌタウナギの NHP は、ヤツメウナギと同様の分化を示す。両者の NHP は、1 つの鼻孔につながる鼻腔（鼻下垂体腔）を形成する。この鼻腔の背側では、無対の嗅上皮と腺性下垂体が隣接して形成される（図 13o, p, 20）。したがって、ヌタウナギとヤツメウナギの NHP は形態発生学的にも同等であることが示唆された。

3.5 ヌタウナギとヤツメウナギの頭部構造の相同性：口鼻領域

NHP と密接な関係をもつ頭部構造のパターンも、ヌタウナギとヤツメウナギの両者の胚で相同であるという可能性が浮上する。そこで両者の頭部構造の発生を比較することにした。まず、組織切片より両者の内部構造を解析すると、咽頭胚中期、NHP の前後に間葉を含んだ突起が形成された。このうち NHP の前方を前鼻突起

（anterior nasal process; anp）、後方を後下垂体突起（posthypophyseal process; php）と呼んだ（図 18a, e）。次に、三次元的に腹側面を観察したところ（ヌタウナギ [3D 復元]、ヤツメウナギ [操作電子顕微鏡]）、両者の PHP は NHP 後部（下垂体プラコード）の後方に一对の突起として生じた。（図 18b, c, f, g）。つづいて左右の NHP は正中で癒合を始め、NHP を含む鼻腔（鼻下垂体腔）と口腔が分離した（図 18d, h）。

つづいて、ヌタウナギでは PHP の前部が 4 対の触手 tentacles を形成した（図 18d）が、一方で、ヤツメウナギの PHP は上唇 upper lip を形成した（図 18h）。ヌタウナギの触手とヤツメウナギの上唇の構造は大きく異なるが、三叉神経の神経支配

のパターンは両者が等価な構造であることを支持した。ヌタウナギの側面の触手 (T1, T3, T4) とヤツメウナギの上唇の側面はともに、等価な三叉神経枝である V2/3A exterior により神経支配される (Homma, 1978; Koyama et al., 1987; Lindstrom, 1949; Nishizawa et al., 1988; Ronan, 1988; Song and Boord., 1993)。一方で、ヌタウナギの正中の触手 (T2)、ヤツメウナギの上唇の正中は三叉神経の V1 により神経支配される (図 19a-d)。この三叉神経のパターンは、ヤツメウナギが変態をおこなったあとの、成体の吸盤においても保存されており (図 19e, f; Homma, 1978, Potter et al., 1982; Song and Boord., 1993)、ヌタウナギの触手がヤツメウナギの上唇および吸盤と相同であることを示唆している。またヌタウナギの成体において、PHP の後方部では鼻腔 (鼻下垂体腔) と咽頭がつながり、その後端 (鼻腔) が盲嚢となっているヤツメウナギとは異なったパターンをもつ (図 1)。しかし、ヌタウナギに特有なこの連絡孔は、PHP に由来する構造 (触手とつづく口鼻下垂体隔壁) の後端が、二次的に破れることで形成されることが分かった (図 13m-p)。したがって、ヌタウナギの触手/口鼻下垂体隔壁とヤツメウナギの上唇は、PHP に由来する相同な構造であると結論した (図 18l, 19g, 20)。

3.6 円口類と顎口類の頭部構造の比較

円口類に共有された頭部発生パターンと顎口類のパターンを比較するために、顎口類であるサメの一種 *S. torazame* の胚と円口類の頭部構造のパターンを比較した。この動物の神経頭蓋のパターンは、基本的に他の顎口類のものと比較可能である (de Beer, 1937)。円口類の PHP が口部構造の一部を形成する一方、顎口類で対応する位置をしめる顎前領域 (アステリスク [ピンク]; 図 18i-k) からは、索前頭蓋の一部、梁軟骨が生じ、口器は形成されない (Wada et al., 2011, Kuratani et al., 2013)。そして、サメの口器は、もっぱら第 1 咽頭弓のみから由来する (図 18i-k)。

三叉神経枝の支配のパターンも顎口類と円口類の間では異なっている。2 つの動物群に共通して、知覚性の第 1 枝 V1 と、それから独立した後方の枝 V2/3 (いわゆる上下顎神経群) が弁別できる。円口類では後者のうち、前方へ伸長する V2/3A が運

動枝（図 19; V2/3A int）をもつ一方、顎口類の類似した神経枝である上顎枝 V2 は運動繊維を含まず、顎筋群は V3 に含まれる運動繊維によってのみ支配される（図 21）。すなわち、顎骨弓の背側に由来する口蓋方形軟骨領域、ならびに、多くの顎口類において前頭鼻隆起（円口類において厳密に対応する領域はない）に由来する前上顎領域とともに知覚性に支配するのに特化した、いわゆる上顎神経を、円口類に特定することは不可能である。これらのことは、顔面領域の基本的な構成が、円口類と現生顎口類において異なっていることを示唆している（図 18l）。

3.7 ヌタウナギと脊椎動物の咽頭領域の相同性

ヌタウナギとヤツメウナギの顔面構造のパターンが一致をしめす咽頭胚期のステージに注目することにより、他の頭部構造にも相同性を確認することが可能となる。その中には、脊椎動物に特異的な咽頭領域の構造も含まれる(Kuratani, 2012)。

脊椎動物の胚では、咽頭部に対を成すアーチ型の器官（咽頭弓）が発生する。この咽頭弓は、その間葉部が中胚葉および神経堤細胞からなり、外・内胚葉上皮によって覆われた柱状の構造であり、咽頭壁から連続的に膨出する咽頭嚢がなす分節的な仕切り（咽頭壁）の間に形成される。咽頭弓に由来する鰓や頸部は、一般的な脊椎動物では顔面に引き続いて形成されるが、ヌタウナギにおける鰓は体幹の中央付近に位置している。以前の研究で、ヌタウナギの咽頭嚢が発生過程で二次的に後方へ下がるということが観察されていた (Stockard, 1906)。今回、咽頭弓の形態の発生も、その遺伝子発現の解析により観察し、他の脊椎動物と比較することにした。

ヤツメウナギを含む脊椎動物の発生過程で、咽頭嚢は *Pax1/9* を発現し (Muller et al., 1996; Ogasawara et al., 2000)、一方で咽頭弓に含まれる咽頭中胚葉は *Tbx1/10* を発現することが知られている (Vitelli et al., 2002; Tiecke et al., 2007; Bothe et al., 2011)。そこでヌタウナギにおけるこれらの発現パターンを調べることにした。ヌタウナギの *Pax1/9* の相同遺伝子である *EbPax1/9* はすでにクローニングされていた (Ota et al., 2011)。そこで、ヌタウナギから 1 種類の *Tbx1/10* の相同遺伝子をクローニングし、*EbTbx1/10A* と名づけた（図 12）。これらの遺伝子の発現解析を行った

ところ、*EbPax1/9* は咽頭の側面に連続して生じる膨出部に発現し (図 22a, 23a)、*EbTbx1/10* はこの膨出の間に位置する間葉において発現することがわかった (図 22b, 23a)。これらの発現パターンは、ヤツメウナギを含む他の脊椎動物において、*Pax1/9* と *Tbx1/10* が咽頭嚢およびその間の咽頭弓に含まれる中胚葉に発現することと共通する。

他の脊椎動物の咽頭弓は、特異的な後脳の分節 (ロンボメア) から生じる、脳神経により神経支配を受けることが知られている。例えば、第 1 咽頭弓は分節の 2 番から生じる三叉神経、第 2 咽頭弓はロンボメア 4 番から生じる顔面神経、第 3 咽頭弓以降は舌咽・迷走神経により神経支配される。ヌタウナギの後脳においても、ロンボメアが観察され、その偶数番の領域から生ずる脳神経が対応する咽頭弓に神経枝を伸ばしているのが観察された (図 24a, b)。

咽頭胚後期、ヤツメウナギの第 2 咽頭嚢は第 1 鰓孔を形成する (図 23m; Kupffer, 1885)。一方で、ヌタウナギでは第 2-3 咽頭嚢が二次的に消失するために、第 4 咽頭嚢が第 1 鰓孔を形成する (図 23h-j)。この消失したヌタウナギの第 2-3 咽頭嚢の間に位置する第 2-4 咽頭弓の中胚葉は、その元の位置に留まり、鰓弓筋を形成した (図 23b-d)。この鰓弓筋は、舌咽・迷走神経により神経支配された (図 24c-g)。以上の結果から、ヌタウナギの咽頭構造は、成体では他の脊椎動物と著しくことなるが、発生途上では分節パターンに基づいて形成される、他の脊椎動物のそれと相同な構造であることが分かった。

3.8 ヌタウナギとヤツメウナギの縁膜の相同性

この咽頭弓のうち、ヤツメウナギは顎口類とは異なり、その最前方の第 1 咽頭弓から、縁膜と呼ばれる、水を鰓へ送る呼吸機能を担う装置を形成する。このヤツメウナギにおける縁膜の骨格および筋は第 1 咽頭弓から供給され、縁膜嚢は第 1 咽頭嚢から形成されることが知られている (図 23 k・m; Kupffer, 1895)。ヌタウナギにおいても、縁膜と呼ばれる類似した機能をもつ構造が同定されている。しかしヌタウナギの縁膜が垂直に位置する一方で、ヌタウナギの縁膜は水平に位置することから、それらの相

同性は否定されていた（図 2; Strahan, 1958）。そこで、ヌタウナギとヤツメウナギの縁膜の相同性を、比較発生学的に検証するために、ヌタウナギの第 1 咽頭弓と第 1 咽頭嚢の発生を追って観察した。ヌタウナギは第 1 咽頭弓の内側から縁膜中胚葉と縁膜骨格が生じた。また第 1 咽頭嚢は肥大し縁膜室（velum chamber）を形成した（図 23a-d, f-j）。以上のことからヤツメウナギとヌタウナギの縁膜は相同な構造であることが示唆された。

3.9 ヌタウナギ胚の後期発生

ヌタウナギ成体に特異的な頭部形態を比較発生学的に解析するために、後期ヌタウナギ胚の頭部構造を詳細に観察した。

咽頭胚中期以降に、ヌタウナギ胚の口鼻下垂体腔に由来する鼻腔（鼻下垂体腔）と口腔は、下垂体に対して相対的に後方へ伸長する（黒矢印と青矢印; 図 23f-j）。このプロセスの間に、鼻腔と縁膜器官は内側へ折れ曲がり水平方向に位置する（図 13i, k, m, o と 23f-j）。そのために、ヌタウナギの鼻腔と縁膜の水平な配置を、ヤツメウナギの垂直に配置するそれと比較するのが困難となる（図 2; janvier, 1996）。

また鼻下垂体腔は後方へ伸長し、PHP に由来する口鼻下垂体隔壁は破れ、鼻下垂体腔は二次的に咽頭に連絡する（図 13m-p）。そのために、鼻下垂体腔の後端が盲嚢であるヤツメウナギとは異なった構造を形成する。

また前述したように、咽頭の後方への伸長に伴い、鰓器官は体幹中央部へ位置する（図 23a-e; stockard, 1906）。そのために、ヤツメウナギと顎口類が咽頭構造を顔面に続いて形成する一方で、ヌタウナギのそれはより後方に位置している。

このような結果より、ヌタウナギに特異的な頭部形態の多くは（図 2）、その発生の後期に二次的に獲得されることが明らかになった。

第 4 章 考察

4.1 胚葉性の腺性下垂体の起源について

以前の研究では、ヌタウナギの腺性下垂体は内胚葉に由来し、その頭部構造は脊椎動物の祖先的なパターンを示すと報告されていた (Gorbman, 1983; Gorbman and Tamarin., 1985)。本研究で、ヌタウナギの下垂体プラコード（腺性下垂体の原基）と口咽頭膜の位置関係と発生を詳細に解析した結果、ヌタウナギの腺性下垂体は外胚葉に由来することが明らかになった。この新たな知見は、最近、ヌタウナギの下垂体が他の脊椎動物におけるのと等価の形態と機能をもつことと整合的である (Sower et al., 2009; Uchida et al., 2011)。そこで、数々の形態データの再検証と、分子解析で示された系統樹を考慮すると (Mallat and Sullivan, 1998; Kuraku et al., 1999; Takezaki et al., 2003; Kuraku, 2008; Heimberg et al., 2010, Kuratani, 2012)、外胚葉性の腺性下垂体は円口類と顎口類の共通祖先においてすでに獲得されていたと考えられる。

4.2 円口類の共有する頭部発生パターン

ヌタウナギとヤツメウナギの成体の頭部構造、またそのトポロジーは大きく異なっている。しかし本研究の比較発生学的な解析により、両者の頭部は、NHP、ANP、PHP、という頭部の基本的な原基からなる汎円口類パターンを共有することを明らかにした (図 18a-h, l)。そして、ヤツメウナギとヌタウナギにそれぞれ特異的な構造である上唇や触手、またヌタウナギの鼻下垂体腔と咽頭の貫通は、発生の後期に形成される二次的なパターンであることが分かった。このように 2 種の円口類が頭部発生パターンを共有する一方、顎口類では、下垂体プラコードは対の鼻プラコードから分離し、口腔に取り込まれる。また、PHP に対応する領域に位置する索前領域からは、頭蓋を構成する梁軟骨が生じ、円口類の PHP ように口部の形成には関与しない。そして、顎口類の口部の構造である顎はほとんど第 1 咽頭弓から形成される。

この鼻・下垂体原基の配置の違いに基づいて、円口類と顎口類はそれぞれに異なる

頭部構造のパターンを形成する。円口類の NHP は、正中の 1 つの鼻孔に続く鼻腔を形成する。そして、鼻腔（鼻下垂体腔）の上部では腺性下垂体と嗅上皮が隣接して位置している。一方で、顎口類では 2 つの鼻孔を形成し、それは口腔から形成される腺性下垂体とは分離している。

どのように脊椎動物の頭部形態が進化したか理解する上で、古生代に絶滅した甲皮類は重要な情報を持つ。甲皮類は、顎を持たない円口類と共有された特徴をもつが一方で、よく発達した硬骨の骨板や鱗で覆われており、軟骨性の内骨格しか持たない円口類とは異なっている。そのため甲皮類は、一般的には円口類よりも顎口類に近縁な系統と見なされている (Donoghue et al., 2006; Janvier, 1996, 2008)。その甲皮類のなかでも原始的なヤモイティウス (*Jamoytiu*) と欠甲類 (*Anaspida*「甲を欠く」) は、頭部の中央に 1 つの鼻孔（鼻下垂体孔）をもつ。両者の骨化は表面に限られ、脳頭蓋には及んでいなかったために、その内部構造に関する情報は得られていない。しかし、一般に推測されるようにこれらの初期甲皮類の鼻・下垂体の構造が、円口類と同様であるならば、NHP は初期の顎口類にも共有されていた可能性がある。言い換えると、NHP は現生する全ての脊椎動物の祖先の形質であった可能性がある。

4.3 ヌタウナギの後期発生過程の改変

ヌタウナギとヤツメウナギ胚は顔面の構造に続く、咽頭構造のパターンも共有していた。しかし、ヌタウナギの後期発生において、口鼻下垂体腔が破れることによる鼻腔と咽頭の連絡、また縁膜を含む咽頭構造の後方への移動により、両者の成体の頭部構造の比較は困難になる (図 23a-j)。ヌタウナギに特異的なこれら形態形成過程は、ヤツメウナギの発生では観察されず、異なる動物群に属する顎口類とも共有されない。おそらくこれらの形質は、ヌタウナギの祖先がヤツメウナギから分岐した後に独自に獲得されたのであらうと思われる。

上の推測はまた、化石記録との比較からも支持される。例えば、祖先的なヌタウナギに位置づけられているミキシニケラ (*Myxinikela siroka*) において、鰓はより前方に位置しており (Bardack, 1991)、現生のヌタウナギの形態の移行段階にあると解

積することが出来る。このミキシニケラにおいては、鼻腔の方向は残念ながら十分に分かっていない。しかし、ヌタウナギにおいて鼻下垂体腔（鼻腔）の下部に位置する副鼻軟骨（現生種における 2 番の触手の骨格）は、側面の唇骨（現生種における 1 番の触手の骨格）の上部に位置し、触手の 1 と 2 の順序が現生種とは入れ替わっている可能性をしめしている（Bardack, 1991）。そのため、祖先的なヌタウナギの鼻孔が、現生種のそれよりも背側に位置していた可能性がある（図 25）。

4.4 脊椎動物の頭部形態の進化

前述のように、初期の顎口類は、ヤモイティウス類や欠甲類のように顎をもたず、また 1 つの鼻孔しかもたなかったと考えられている。これらの動物が、その発生期に汎円口類パターンを共有していたと仮定すると、後にどのように脊椎動物の頭部構造は変化し、現在の顎口類のパターンへ至ったのであろうか。この顎口類へ至る初期脊椎動物の頭部形態の進化を推定するために有用なのは、より現生顎口類に近縁な 2 種の甲皮類のグループである、ガレアスピス類と骨甲類（*Osteostraci*「骨性の甲をもつ」）である（Janvier, 1996）。この 2 つのグループの硬骨化は外部の頭甲に加え、その内部の脳頭蓋に及んでおり、その鼻・下垂体、脳の構造を化石記録に留めている。

最近、その詳細な頭部構造の解析から、ガレアスピス類と骨甲類は顎の獲得には至っていないが、その頭部構造は現生する顎口類に類似した数々の特徴を持つことが分かってきた（Davis et al., 2012）。ガレアスピス類は、円口類のように単鼻孔であるが、その内部では、現生の顎口類のように嗅上皮が有対になっており、さらに腺性下垂体は嗅上皮と棒状の骨格によりはばてられている（Gai et al., 2011）。

ケファラスピス類については、いまだガレアスピス類といずれが顎口類と近縁であるかは、明確ではない。現在のところ、ケファラスピス類はガレアスピス類よりも後に現生顎口類の祖先から分岐したという仮説が優位であるが、それはケファラスピス類において頭甲のわきに繋がる突起が顎口類の対鰭に相当すると考えられているためである（Janvier, 1996）。ケファラスピス類の鼻腔と嗅上皮、腺性下垂体の位置関係はヤツメウナギのパターンと類似しており、以前は両者の頭部構造は相同であると

考えられていた (Stensiö, 1927)。しかし、上記のようにガレアスピス類がセファラスピス類と顎口類の姉妹群を成すという系統関係を認めるのであれば、セファラスピスの頭部形態は二次的に変形し、ヤツメウナギと相似な構造を形成したと推定される (Gai et al., 2011)。

このような考察に基づけば、ガレアスピス類はその発生過程で、正中で癒合する横に広がった嗅上皮の原基（鼻プラコード）と分離した腺性下垂体の原基（下垂体プラコード）を獲得していた可能性がある。つまりガレアスピス類は、汎円口類パターンから顎口類パターンへの遷移を示しており、脊椎動物の頭部形態の進化において、顎の獲得に先立って、鼻・下垂体の構造の変形が起こったことを示している可能性がある。このように、汎円口類パターンは現生する全ての脊椎動物の祖先的な形態であるのかもしれない。

謝辞

本研究を行うにあたり、指導教官である神戸大学教授、理化学研究所 CDB 形態進化研究グループグループリーダー、倉谷滋博士には、5 年間指導していただきました。ここに感謝いたします。

また、細胞與個體生物學研究所、助研究員、太田欽也博士にはヌタウナギの獲得と飼育、発生を観察の仕方について多くの助言をいただきました。CDB ゲノムユニットユニットリーダー工樂樹洋博士には、遺伝子の分子系統解析をしていただきました。島根江津漁協の柿谷紀さんには、ヌタウナギ成体と卵の管理をして頂きました。CDB 形態進化研究グループ研究員の菅原文昭博士、青田伸一博士、ならびにアシスタントの藤本聡子さんには、遺伝子のクローニングに際して多くのアドバイスを頂きました。愛媛大学理学部教授、村上安則博士には神経の発生の解析に関してアドバイスをいただきました。平沢達也博士には、化石記録の解釈についてアドバイスを頂きました。また、新潟大学医学部第一解剖助教、長島寛博士、CDB 形態進化研究グループ研究員、多田基紀博士、岩手医科大学解剖学講座助教、武智正樹博士には組織学実験に関する様々なアドバイスをいただきました。尾内隆行博士には下垂体の由来について議論していただきました。CDB 形態進化研究グループ研究員の足立礼孝博士、CDB 形態進化研究グループ学生の東山大毅君には、脊椎動物の頭部発生に関する多くの議論をして頂きました。新潟大学理学部教授、野崎眞澄博士には、ヌタウナギの下垂体発生に関して議論していただきました。CDB 形態進化研究グループ研究員、入江直樹博士、Juan Pascual Anaya 博士、農業生物資源研究所、鈴木誉保博士には研究をまとめるにあたり多くのアドバイスをしていただきました。その他 CDB 形態進化研究グループには、プログレスレポートや成果発表会などを通しての討論、ご意見を多くいただきました。ここに感謝申し上げます。

参考文献

- Adachi, N. & Kuratani, S. Development of head and trunk mesoderm in the dogfish, *Scyliorhinus torazame*: I. Embryology and morphology of the head cavities and related structures. *Evol Dev* **14**, 234-256 (2012).
- Bailey, A.P., Bhattacharyya, S., Bronner-Fraser, M. & Streit, A. Lens specification is the ground state of all sensory placodes, from which FGF promotes olfactory Identity. *Developmental Cell* **11**, 505-517 (2006).
- Ballard, W.W., Mellinger J. & Lechenaut H. A Series of normal stages for development of *Scyliorhinus canicular*, the lesser spotted dogfish (Chondrichthyes: Scyliorhinidae). *J Exp Zool* **267**, 318-336 (1993).
- Bardack, D. First fossil hagfish (Myxinoidea): A record from the pennsylvanian of Illinois. *Science* **254**, 701-703 (1991).
- Bothe, I., Tenin, G., Oseni, A. & Dietrich, S. Dynamic control of head mesoderm patterning. *Development* **138**, 2807-21 (2011).
- Bjerring, H.C. Apertures of Craniate olfactory Organs. *Acta Zool* **70**, 71-85 (1989).
- Braun, C.B. & Northcutt, R.G. The lateral line system of hagfishes (Craniata: Myxinoidea). *Acta Zool* **78**, 247-268 (1997).
- Candiani, S., Holland, N.D., Oliveri, D., Parodi, M. & Pestarino, M. Expression of the amphioxus Pit-1 gene (*AmphiPOU1F1/Pit-1*) exclusively in the developing preoral organ, a putative homolog of the vertebrate adenohypophysis. *Brain Res. Bull* **75**, 324-330 (2008).
- Charles, M.A. et al. PITX genes are required for cell survival and *Lhx3* activation. *Mol Endocrinol* **19**, 1893-1903 (2005).
- Davis, S.P., Finarelli, J.A. & Coates, M.I. *Acanthodes* and shark-like conditions in the last common ancestor of modern gnathostomes. *Nature* **486**, 247-250 (2012).
- Dean, B. On the embryology of *Bdellostoma stouti*. A genera account of myxinoid development from the egg and segmentation to hatching. *Festschrift zum*

- 70ten Geburststag Carl von Kupffer*, 220-276 (1899).
- de Beer GR. The Development of the Vertebrate Skull (Oxford Univ Press, London, 1937).
- Dickinson, A.J. & Sive, H. Development of the primary mouth in *Xenopus laevis*. *Dev Biol* **295**, 700-713 (2006).
- Donoghue, P.C.J., Sansom, I.J. & Downs, J.P. Early evolution of vertebrate skeletal tissues and cellular interactions, and the canalization of skeletal development. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol* **306B**, 278-294 (2006).
- Fernholm, B. A third embryo of *Myxine*: considerations on hypophyseal ontogeny and phylogeny. *Acta Zool* **50**, 169-177 (1969).
- Forey, P. & Janvier, P. Agnathans and the origin of jawed vertebrates. *Nature* **361**, 129-134 (1993).
- Gai, Z., Donoghue, P.C., Zhu, M., Janvier, P. & Stampanoni, M. Fossil jawless fish from China foreshadows early jawed vertebrate anatomy. *Nature* **476**, 324-327 (2011).
- Gess, R.W., Coates, M.I. & Rubidge, B.S. A lamprey from the devonian period of South Africa. *Nature* **443**, 981-984 (2006).
- Gilland, E. H. Morphogenesis of segmental units in the chordamesoderm and neurepithelium of *Squalus acanthias*. Harvard University, Ann Arbor, MI, (1992).
- Gorbman, A. Early development of the hagfish pituitary gland: Evidence for the endodermal origin of the adenohypophysis. *Am. Zool.* **23**, 639-654 (1983).
- Gorbman, A. & Tamarin, A. Early development of oral, olfactory and adenohypophyseal structures of agnathans and its evolutionary implications in *Evolutionary biology of primitive fishes* (eds Foreman.E.R., Gorbman.A., Dodd.M.J. & Olsson.R) (Plenum, New York, 1985).
- Heimberg, A.M., Cowper-Sal-lari, R., Semon, M., Donoghue, P.C. & Peterson, K.J.

- microRNAs reveal the interrelationships of hagfish, lampreys, and gnathostomes and the nature of the ancestral vertebrate. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 19379-19383 (2010).
- Homma, S. Organization of the trigeminal motor nucleus before and after metamorphosis in lampreys. *Brain Res* **140**, 33-42 (1978).
- Horigome, N., Myojin, M., Ueki, T., Hirano, S., Aizawa. & Kuratani, S. Development of cephalic neural crest cells in embryos of *Lampetra japonica*, with special reference to the evolution of the jaw. *Dev Biol* **207**, 287-308 (1999).
- Janvier, P. *Early vertebrates* (Clarendon Press, Oxford, 1996).
- Janvier, P. Early Jawless Vertebrates and Cyclostome Origins. *Zool Sci* **25**, 1045-1056 (2008).
- Jean, D., Bernier, G. & Gruss, P. *Six6 (Optx2)* is a novel murine *Six3*-related homeobox gene that demarcates the presumptive pituitary/hypothalamic axis and the ventral optic stalk. *Mech Dev* **84**, 31-40 (1999).
- Khonsari, R.H., Li, B., Vernier, P., Northcutt, R.G. & Janvier, P. Agnathan brain anatomy and craniate phylogeny. *Acta Zool* **90**, 52-68 (2009).
- Kouki, T. et al. Developmental origin of the rat adenohypophysis prior to the formation of Rathke's pouch. *Development* **128**, 959-963 (2001).
- Koyama, H., Kishida, R., Goris, R.C. & Kusunoki, T. Organization of sensory and motor nuclei of the trigeminal nerve in lampreys. *J Comp Neurol* **264**, 437-448 (1987).
- Kuraku, S. Insights into cyclostome phylogenomics: Pre-2R or Post-2R. *Zool Sci* **25**, 960-968 (2008).
- Kuraku, S. & Kuratani, S. Timescale for cyclostome evolution inferred with a phylogenetic diagnosis of hagfish and lamprey cDNA sequences. *Zool Sci* (2006).
- Kuratani, S. Evolution of the vertebrate jaw from developmental perspectives. *Evol*

- Dev* **14**, 76-92 (2012).
- Kuratani, S., Horigome, N. & Hirano, S. Developmental morphology of the head mesoderm and reevaluation of segmental theories of the vertebrate head: evidence from embryos of an agnathan vertebrate, *Lampetra japonica*. *Dev Biol* **210**, 381-400 (1999).
- Kuratani, S., Murakami, Y., Nobusada, Y., Kusakabe, R. & Hirano, S. Developmental fate of the mandibular mesoderm in the lamprey, *Lethenteron japonicum*: Comparative morphology and development of the gnathostome jaw with special reference to the nature of the trabecula cranii. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* **302**, 458-468 (2004).
- Kuratani, S., Nobusada, Y., Horigome, N. & Shigetani, Y. Embryology of the lamprey and evolution of the vertebrate jaw: insights from molecular and developmental perspectives. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **356**, 1615-1632 (2001).
- Lindstrom, T. On the cranial nerves of the cyclostomes with special reference to n. trigeminus. *Acta Zool Stockh* **30**, 315-458 (1949).
- Mallatt, J. & Sullivan, J. 28S and 18S rDNA sequences support the monophyly of lampreys and hagfishes. *Mol Biol Evol* **15**, 1706-1718 (1998).
- Maruoka, Y. et al. Comparison of the expression of three highly related genes, Fgf8, Fgf17 and Fgf18, in the mouse embryo. *Mech Dev* **74**, 175-177 (1998).
- Marinelli, W. & Strenger, A. *Vergleichende Anatomie und Morphologie der Wirbeltiere 2. Myxine Glutinosa* (Franz. Deuticke, Wien, 1956).
- Muller, T.S. et al. Expression of avian Pax1 and Pax9 is intrinsically regulated in the pharyngeal endoderm, but depends on environmental influences in the paraxial mesoderm. *Dev Biol* **178**, 403-17 (1996).
- Nishizawa, H., Kishida, R., Kadota, T. & Goris, R.C. Somatotopic organization of the primary sensory trigeminal neurons in the hagfish, *Eptatretus burgeri*. *J Comp Neurol* **267**, 281-295 (1988).

- Ogasawara, M., Shigetani, Y., Hirano, S., Satoh, N. & Kuratani, S. *Pax1/Pax9*-Related genes in an agnathan vertebrate, *Lampetra japonica*: expression pattern of *LjPax9* implies sequential evolutionary events toward the gnathostome body plan. *Dev Biol* **223**, 399-410 (2000).
- Ota, K.G., Fujimoto, S., Oisi, Y. & Kuratani, S. Identification of vertebra-like elements and their possible differentiation from sclerotomes in the hagfish. *Nat Commun* **2**, 373 (2011).
- Ota, K.G., Kuraku, S. & Kuratani, S. Hagfish embryology with reference to the evolution of the neural crest. *Nature* **446**, 672-675 (2007).
- Ota, K.G. & Kuratani, S. The history of scientific endeavors towards understanding hagfish embryology. *Zoolog Sci* **23**, 403-418 (2006).
- Potter, I.C.H., W. R & Bird, J. D. Stages in metamorphosis in *The Biology of Lamprey* Vol. 4B (eds Hardisty, M. W. & Potter, I. C) 143-152 (Academic press, London. New York, 1982).
- Sansom, R.S., Freedman, K.I.M., Gabbott, S.E., Aldridge, R.J. & Purnell, M.A. Taphonomy and affinity of an enigmatic Silurian vertebrate, *Jamoytius kerwoodi* White. *Palaeontology* **53**, 1393-1409 (2010).
- Schlusser, G. Evolutionary origins of vertebrate placodes: insights from developmental studies and from comparisons with other deuterostomes. *J Exp Zoolog B Mol Dev Evol* **304**, 347-399 (2005).
- Sheng, H.Z. et al. Specification of pituitary cell lineages by the LIM homeobox gene *Lhx3*. *Science* **272**, 1004-1007 (1996).
- Shigetani, Y. et al. Heterotopic shift of epithelial-mesenchymal interactions in vertebrate jaw evolution. *Science* **296**, 1316-1319 (2002).
- Song, J. & Boord, R.L. Motor components of the trigeminal nerve and organization of the mandibular arch muscles in vertebrates: phylogenetically conservative patterns and their ontogenetic basis. *Acta Anat (Basel)* **148**, 139-149 (1993).

- Soukup, V., Horáček, I. & Cerný, R. Development and evolution of the vertebrate primary mouth. *J Anat* **221** (2012, in press).
- Sower, S.A., Freamat, M. & Kavanaugh, S.I. The origins of the vertebrate hypothalamic–pituitary–gonadal (HPG) and hypothalamic–pituitary–thyroid (HPT) endocrine systems: New insights from lampreys. *Gen. Comp. Endocrinol.* **161**, 20-29 (2009).
- Stockard, C.R. The development of the mouth and gills in *Bdellostoma stoutii*. *Am. J. Anat.* **5**, 481-517 (1906).
- Stockard, C.R. The embryonic history of the lens in *bdellostoma stouti* in relation to recent experiments. *Am. J. Anat.* **6**, 511-515 (1909).
- Strahan, R. The velum and the respiratory current of *Myxine*. *Acta. Zool.* **39**, 1-14 (1958).
- Suga, H. et al. Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. *Nature* **480**, 57-62 (2011).
- Sugahara, F. et al. Involvement of Hedgehog and FGF signalling in the lamprey telencephalon: evolution of regionalization and dorsoventral patterning of the vertebrate forebrain. *Development* **138**, 1217-1226 (2011).
- Tahara, Y. Normal stages of development in the lamprey, *Lampretra reissneri* (Dybowski). *Zool Sci* **5**, 109-118 (1988).
- Takezaki, N., Figueroa, F., Zaleska-Rutczynska, Z. & Klein, J. Molecular phylogeny of early vertebrates: monophyly of the agnathans as revealed by sequences of 35 genes. *Mol Biol Evol* **20**, 287-292 (2003).
- Tiecke, E. et al. Identification and developmental expression of two *Tbx1/10*-related genes in the agnathan *Lethenteron japonicum*. *Development Genes and Evolution* **217**, 691-697 (2007).
- Treier, M. et al. Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* **128**, 377-386 (2001).

- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* **22**, 4673–4680 (1994).
- Uchida, K. et al. Evolutionary origin of a functional gonadotropin in the pituitary of the most primitive vertebrate, hagfish. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 15832-15837 (2011).
- Uchida, K., Murakami, Y., Kuraku, S., Hirano, S. & Kuratani, S. Development of the adenohypophysis in the lamprey: evolution of epigenetic patterning programs in organogenesis. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* **300**, 32-47 (2003).
- van Wijhe, J.W. *Über die Mesodermsegmente und die Entwicklung der Nerven des Selachierkopfes*. Ver Akad Wiss Amsterdam, Groningen pp, 1–50 (1882).
- von Kupffer, C. Über die Entwicklung des Kiemenskelets von Ammocoetes und die organogene Bestimmung des Exoderms. *Verh Anat Ges* **10**, 105-123 (1885).
- von Kupffer, C. *Studien zur Vergleichenden Entwicklungsgeschichte des Kopfes der Kranioten. Heft 4: Zur Kopfentwicklung von Bdellostoma*. 86 (Lehmann, 1900).
- Vitelli, F. et al. A genetic link between Tbx1 and fibroblast growth factor signaling. *Development* **129**, 4605-11 (2002).
- Wicht, H. & Northcutt, R.G. Ontogeny of the head of the Pacific hagfish (*Eptatretus stouti*, Myxinoidea): development of the lateral line system. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* **349**, 119-134 (1995).
- Wicht, H. & Tusch, U. in *The biology of hagfish* (eds. Jørgensen, J.M., Lomholt, J.R., Weber, R.E. & Molte, H.) 431-451 (Chapman & Hall, London, 1998).
- Yalden. Feeding mechanisms as evidence for cyclosome monophyly. *Zool. J. Linn. Soc.* **84**, 291-300 (1985).

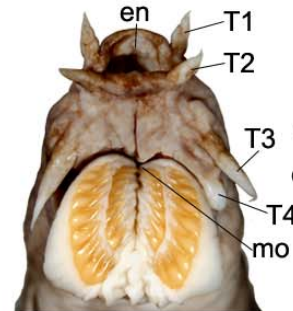
写真図版

HAGFISH

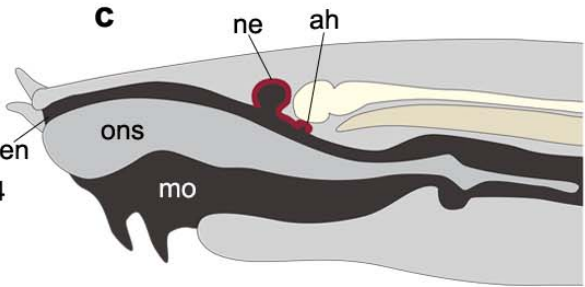
a



b



c

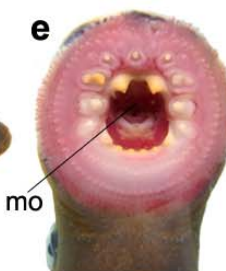


LAMPRAY

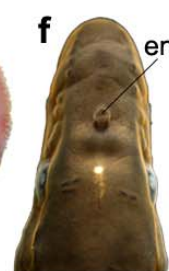
d



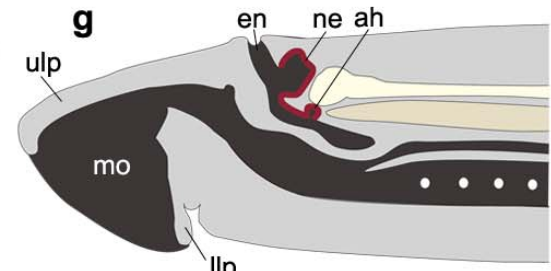
e



f

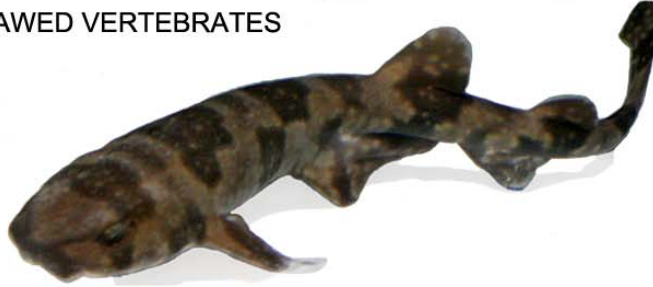


g



JAWED VERTEBRATES

h



i



j

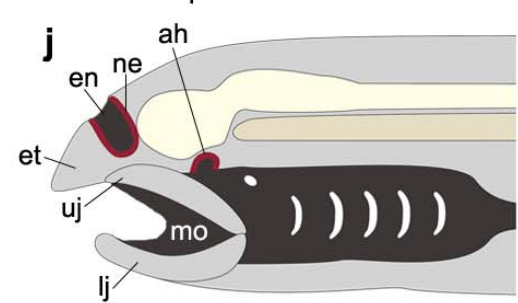
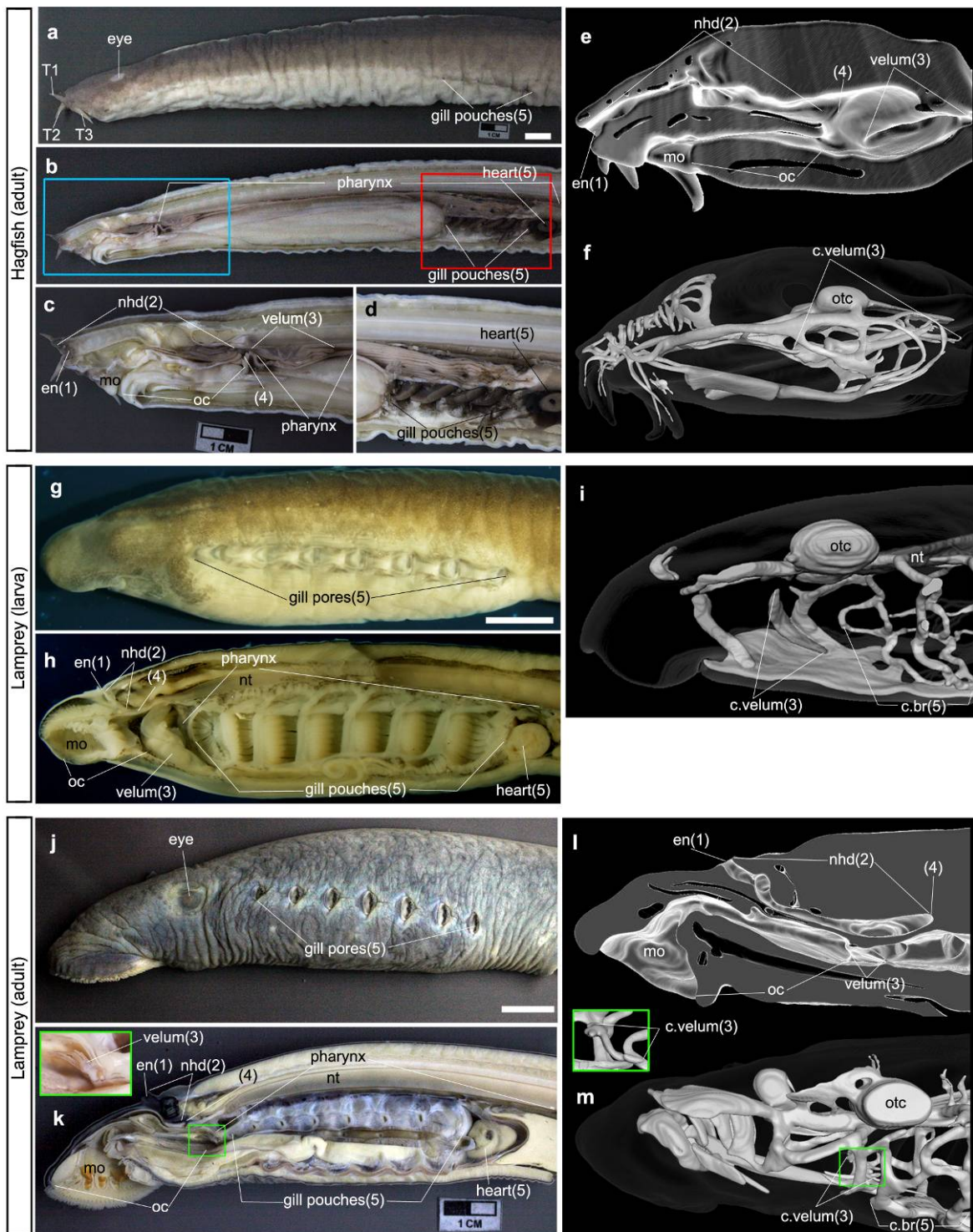


図 1. 円口類（ヌタウナギとヤツメウナギ）と顎口類の頭部構造の比較

(a) ヌタウナギ *Eptatretus burgeri* の成体の背面図。鰭を持たず、細長い形態を示す。また眼のレンズを持たず、対応する位置の皮膚は白くなっている。(d) ヌタウナギ頭部の腹面図。正中に 1 つの鼻腔 (en) をもち、顎を持たない。またヌタウナギに特異的な 4 対のヒゲ (T1-T4) が観察される。(c) ヌタウナギ頭部の断面模式図。嗅上皮 (ne) と腺性下垂体 (ah) は隣接している。鼻孔に続く鼻腔（鼻下垂体腔）は口とは、口鼻下垂体隔壁 (ons) により仕切られる。その後端部では、咽頭部と連絡している。(d) ヤツメウナギ *Lethenteron japonicum* の側面図。ヌタウナギ同様に鰭を持たず細長い形態を示す。(e) ヤツメウナギ頭部の腹面図。顎を持たず吸盤上の口を形成している。(f) ヤツメウナギ頭部背面図。正中に 1 つの鼻孔をもつ。(g) ヤツメウナギ頭部の断面模式図（左前方）。ヤツメウナギにおいても、ヌタウナギ同様、嗅上皮と腺性下垂体は近接している。鼻孔に連続する鼻下垂体腔と口は上唇により仕切られている。ヌタウナギとは異なり、その後端は咽頭には連絡しない。(h) サメ *Scylliorhinus torazame* の背面図。鰭を持っている。(i) サメの頭部の正面図。2 つの鼻孔と関節した顎（上顎 [uj] と下顎 [lj]）を供えた口をもつ。(j) サメの頭部の断面模式図（左前方）。2 種の円口類とは異なり、嗅上皮は下垂体とは篩骨領域 (et) により分離している。また下垂体は口腔に取り込まれている。一般的な脊椎動物（ヤツメウナギと全ての顎口類を含む）において、嗅上皮と腺性下垂体は外胚葉に由来する(g, j)。ヌタウナギにおいて、これらの構造が内胚葉に由来するという報告は(c)、この動物の頭部構造が祖先的だと解釈された根拠であった。ah, 腺性下垂体 (adenohypophysis) ; en, 鼻孔 (external nostril [s]) ; et, 篩骨領域 (ethmoidal region) ; mo, 口 (mouth) ; ne, 嗅上皮 (nasal epithelium) ; ons, 口鼻下垂体隔壁 (oronasohypophyseal septum) ; T1-4, 触手 1-4 (tentacles 1-4) ; uj, 上顎 (upper jaw) ; ulp, 上唇 (upper lip) ; lj, 下顎 (lower jaw) ; llp, 下唇 (lower lip) .



	Anatomical features	Hagfish	Lamprey
(1)	Position of the external nostril (en)	rostral	dorsal
(2)	Orientation of the nasohypophyseal duct (nhd)	oblique	vertical
(3)	Orientation of the velum	oblique	vertical
(4)	End of the nasohypophyseal duct	open	blind
(5)	Positions of the gills and heart	posterior	anterior

図 2. ヌタウナギとヤツメウナギの頭部構造の比較

(a-m) ヌタウナギの成体 (a-f) とヤツメウナギのアンモシーテス幼生 (g-i) とヤツメウナギの成体 (j-m) の頭部形態の側面図。a, g, j, 側面図。b, h, k, 中央断面図。c, 青の四角の拡大図。d, 緑の四角の拡大図。e, l 頭部の正中断面。f, i, m, 3D 復元された頭部骨格。ヌタウナギとヤツメウナギの頭部形態には下記のような大きな違いがある。

- (1) 鼻孔はヌタウナギでは正面に開くが、ヤツメウナギでは背中に開く。
- (2) 鼻腔（鼻下垂体腔）はヌタウナギでは平行だが、ヤツメウナギでは垂直に近い。
- (3) 縁膜はヌタウナギでは平行方向に位置するが、ヤツメウナギでは垂直に位置する。
- (4) 鼻下垂体腔の後端はヌタウナギでは咽頭につながるが、ヤツメウナギでは独立した盲嚢である。
- (5) ヤツメウナギでは口腔に続いて鰓が配置されるが、ヌタウナギでは鰓はずっと後方の体幹の中央部に位置する。

c.br, 鰓弓骨格 (branchial cartilage) ; c.velum, 縁膜骨格 (velum cartilage) ; en, 鼻孔 (external nostril) ; mo, 口 (mouth) ; nhd, 鼻下垂体管 (nasohypophyseal duct) ; nt, 脊索 (notochord) ; oc, 口腔 (oral cavity) ; otc, 耳殻 (otic capsule) ; T1-4, 触手 1-4 (tentacles 1-4). Bars, 1 cm (a, g, j).

表 1. ヌタウナギの発生ステージの比較

	<i>B. stouti</i> (Dean, 1899) ¹⁸		<i>E. burgeri</i> (Ota et al., 2011 and this study) ¹⁹	
Dst = Figure # in Dean (1899)	Designation of embryonic stages	# of gill slits	Estimated days of embryos after egg deposition and body length	Designation of embryonic stages
16	Early segmentation	undetected	?	?
17	Blastula			
18	Early gastrula			
19, 20	Late blastula (early gastrula)			
21, 22, 23	Gastrula			
25	Early embryos (defined by gill #)		114 (5.2 mm)	Neurula
26			135 (7.3 mm)	
27			?	
28		1	145 (10.7 mm)	
30		not described	139 (14.4 mm)	?
31, 32			?	
33		5-6	154 (no data)	Early pharyngula
35				
36		7-9	?	?
37, 38				
39		9-10	108 (15.2 mm), 126 (17.3 mm)	Mid pharyngula
40				
41		10	?	
42		11-12		
43				
44		12-13	127 (16.8 mm)	
45			?	
46		13-14	145 (20.6 mm)	
47				
50	Late embryos	not described	195 (17.7 mm)	Late pharyngula
51			195 (24.6 mm)	
53				

Dean (1899) によって報告されているヌタウナギの一種である *Bdellostoma stouti* のスケッチの番号を参考にし、*E. burgeri* の発生ステージを決定した。Dean の記述では、1つの胚に複数の図が対応している場合もあった。今回の実験では、青色の枠の胚のステージを利用した。黄色は、その胚の長さ。発生段階は、太田 (2001) を参考にした。発生ステージは咽頭嚢の数などの外形により推定した。ステージ 35 は他の胚と比較して発生に時間を要している。



図 4. ヌタウナギ胚の頭部発生

(a-i) 発生するヌタウナギ胚頭部の背側図。(a-b) 神経胚中期。内耳原基（耳プラコード）の凹みが観察される。(c-d) 神経胚後期。咽頭が発達する。(e) 咽頭胚初期。中枢神経が発達し脳室が明瞭に観察される。(f-h) 咽頭胚中期。(i) 咽頭胚後期。(j-m) 発生するヌタウナギ胚頭部の側面図。(l) 咽頭胚後期。縁膜が発生する。(m) 咽頭胚後期。触手の発生。eye, 眼; ht, 心臓原基 (heart); mo, 口 (mouth); ne, 嗅上皮 (nasal epithelium); ot, 耳胞 (otic cavity); otc, 耳殻 (otic capsule); ph, 咽頭 (pharynx); sm, 体節 (somites); T1-4, 触手 1-4(tentacles1-4); vel, 縁膜 (velum) . Bars, 100 μ m.

Eptatretus_burgeri_Hh1	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ PM ⁶ TQ ⁷ CKDRLNSLAISVMNQWPGVKLR
Lethenteron_camtschaticum_Hh	AYKQFVPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIARGSE ² RFKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDRLNSLAISVMNQWPGVKLR
Scyliorhinus_torazame_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNSLAISVMNQWPGVKLR
Oryzias_melastigma_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNTD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNSLAISVMNQWPGVKLR
Xenopus_tropicalis_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKISR ² NSER ³ FKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR
Trachemys_scripta_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKISR ² NSER ³ FKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR
Gallus_gallus_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR
Dromaius_novaehollandiae_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR
Monodelphis_domestica_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKISR ² NSER ³ FKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR
Mus_musculus_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKIT ² RNSE ³ RFKELTPNYNTD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNSLAISVMNQWPGVKLR
Homo_sapiens_Sh	AYKQFIPNVAEKT ¹ LGASGRYEGKISR ² NSER ³ FKELTPNYNPD ⁴ IIFKDEENTGADR ⁵ LM ⁶ TQ ⁷ CKDKLNALAISVMNQWPGVKLR

図5 Hh 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatretus_burgeri_Nkx2.1	NLGELPPYQESV ¹ RTNAGAGG ² WYGTGAD ³ PRFST ⁴ IS ⁵ RFMSSSSAMNVTGM ⁶ TLGSLAD ⁷ QKVALGSLHAAPR
Lethenteron_camtschaticum_Nkx2.1	MGELPPYQDGM ¹ R ² GAGAGG ³ WYGANAD ⁴ PRYST ⁵ IS ⁶ RFMSTSSGMNMGGMNAYGGMGGDAGKVLAPLVSTPRR
Danio_rerio_Nkx2.1a	MGDLPSYQESMRNGATATAWYGSNPEPRYP ¹ TIS ² RFMGPSAGMNMGTLP ³ GMDA----SK-SMVTLHAAPRR
Xenopus_Laevis_Nkx2.1	MSELPPYQDTMRNS-SATGWYGANPD ¹ PRFST ² IS ³ RFMGPSGGMNM ⁴ EGLGNMGS ⁵ LGDVSK-SMTPLQATPRR
Gallus_gallus_Nkx2.1	MSELPPYQDTMRNSASATGWYGTNPDP ¹ RFSS ² IS ³ RFMAPSSGMNM ⁴ GGMLSSLGDVSK-SMAPLQSTPRR
Monodelphis_domestica_Nkx2.1	MSELPPYQETMRNSASATGWYGANAD ¹ PRFP ² SIS ³ RFMGPTSGMNM ⁴ SGMGGLG ⁵ PLGDVSK-NIAPLQSAPRR
Mus_musculus_Nkx2.1	MSELPPYQDTMRNSASGP ¹ GWYGANPD ² PRFPAIS ³ RFMGPASGMNM ⁴ SGMGGLG ⁵ SLGDVSK-NMAPLPSAPRR
Homo_sapiens_Nkx2.1	MSELPPYQDTMRNSASGP ¹ GWYGANPD ² PRFPAIS ³ RFMGPASGMNM ⁴ SGMGGLG ⁵ SLGDVSK-NMAPLPSAPRR
Eptatretus_burgeri_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Lethenteron_camtschaticum_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Danio_rerio_Nkx2.1a	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Xenopus_Laevis_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Gallus_gallus_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Monodelphis_domestica_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Mus_musculus_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ
Homo_sapiens_Nkx2.1	KRRRVLF ¹ SQAQVYELERR ² FKQQK ³ YLSAPEREHLASMIHLTPTQVKIWFQNHRYKMKRQ

図6 Nkx2.1 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatretus_burgeri_Six3/6A	SEVLARHESVLRARAIVAFHAGNFGDLYGILESHRFAKASHGKLQVLWLEARYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Danio_rerio_Six3a	CEAINKHESILRARAVVAFHTGNFRDLYHILENHKFTKDSHGKLQAMWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Xenopus_tropicalis_Six3	CEAINKHESILRARAVVAFHTGNFRDLYHILENHKFTKESHGKLQAMWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Gallus_gallus_Six3	CEAINKHESILRARAVVAFHTGNFRDLYHILENHKFTKESHGKLQAMWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Mus_musculus_Six3	CEAINKHESILRARAVVAFHTGNFRDLYHILENHKFTKESHGKLQAMWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Danio_rerio_Six6a	CDVLGNESVLRARAIVAFHAGNFRELYHILENHKFTKDSHAKLQALWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Xenopus_laevis_Six6	CEALNKNESVLRARAIVAFHTGNFRELYHILENHKFTKDSHTKLQALWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Gallus_gallus_Six6	CEALNKNESVLRARAIVAFHTGNFRELYHILENHKFTKESHGKLQALWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Mus_musculus_Six6	CEALNKNESVLRARAIVAFHGGNYRELYHILENHKFTKESHAKLQALWLEAHYQEAERLRGRPLGPVDKYRVRKKFPLPR
Eptatretus_burgeri_Six3/6A	TIWDGEQKSHCFKERTRSLLREWYLQDPYPNPAKKRE
Danio_rerio_Six3a	TIWDGEQKTHCFKERTRSLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Xenopus_tropicalis_Six3	TIWDGEQKTHCFKERTRSLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Gallus_gallus_Six3	TIWDGEQKTHCFKERTRSLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Mus_musculus_Six3	TIWDGEQKTHCFKERTRSLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Danio_rerio_Six6a	TIWDGEQKTHCFKERTRHLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Xenopus_laevis_Six6	TIWDGEQKTHCFKERTRHLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Gallus_gallus_Six6	TIWDGEQKTHCFKERTRHLLREWYLQDPYPNPSKKRE
Mus_musculus_Six6	TIWDGEQKTHCFKERTRHLLREWYLQDPYPNPSKKRE

図7 Six3/6 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatretus_burgeri_PitxA	IAVWTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QHAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-SGYSYNNWAS KGLASNALSAKS FPPFN SVNVN -ALSSQGVFQTP---SSMSMTSA
Eptatretus_stoutii_PitxA1	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QHAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-SGYSYNNWAS KGLASNALSAKS FPPFN SVNVN -ALSSQGVFQTP---SSMSMTSA
Petromyzon_marinus_Pitx	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QHAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-SGYSYNNWAA KS LT SNPLSSKS FPPFN SMNNAALSSQSVFSSP ---GTMSMSTG
Danio_rerio_Pitx2a	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QQAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-PSYTYNNWAA KGLTSASLSTKS FPPFN SMNVN -PLSSQTMFSP PPNSISSMS SSS
Xenopus_laevis_Pitx2	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QQAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-PSYSYNNWAA KGLTSASLSTKS FPPFN SMNVN -PLSSQSMFSSP NSISSMS SSG
Gallus_gallus_Pitx2	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QQAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-PGYSYNNWAA KGLTSASLSTKS FPPFN SMNVN -PLSSQSMFSP PPNSISSMS SSS
Mus_musculus_Pitx2	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QQAELCKNGFGPQFNGLMQPYDDMY-PGYSYNNWAA KGLTSASLSTKS FPPFN SMNVN -PLSSQSMFSP PPNSISSMS SSS
Gallus_gallus_Pitx1	I AV WTNLT EARVRVWF KNRR AKWRKRERN QQAELCKNGYVPQFSGLMQPYDDMY-AGYPYNKWATKSLTPAPLSTKSF TFNSM --S-PLSSQSMFSA PSSISSM NMPFG
Eptatretus_burgeri_PitxA	MVPSTV---PPAGLN--SGLNNLGGTSLGST---SSCPYAAGPGAAAY-MYRDTCNSSLASLRLKAKQHSGFGYPGGVQPTPASLSACQY AV ERP V
Eptatretus_stoutii_PitxA1	MLPSTV---PPAGLN--SGLNNLGGTSLGST---SSCPYAAGPGAAAY-MYRDTCNSSLASLRLKAKQHSGFGYPGGVQPTPASLSACQY AV ERP V
Petromyzon_marinus_Pitx	MVPPSV---PSVP-T--AGLNNLSGPA LSSA --GPTCPY-GGPPAAAY-MYRDTCNSSLASLRLKAKQHSGFGYPAGVQPPPAALSACQY AM ERP V
Danio_rerio_Pitx2a	MVPSAVTGVP GS SLNSLNNLNNLSNP SLNS SGVTPACPY--APPTPPY-VYRDTCNSSLASLRLKAKQHSSFGY-ASVQN PAS NLSACQY AV DRP V
Xenopus_laevis_Pitx2	MVPSAVTGVP GS SLNSLNNLNNLSNP SLNTAV PTSACPY--APPTPPY-VYRDTCNSSLASLRLKAKQHSSFGY-ATVQTPGSNLSACQY AV NRP V
Gallus_gallus_Pitx2	MVPSAVTGVP GS SLNSLNNLNNLSNP SLNS AVTPACPY--APPTPPY-VYRDTCNSSLASLRLKAKQHSSFGY-ASVQN PAS NLSACQY AV DRP V
Mus_musculus_Pitx2	MVPSAVTGVP GS SLNSLNNLNNLSNP SLNS AVTPACPY--APPTPPY-VYRDTCNSSLASLRLKAKQHSSFGY-ASVQN PAS NLSACQY AV DRP V
Gallus_gallus_Pitx1	M GH SAVPGMANSGLN---NINNISGSSLNSAMSSPACPY--GPPGSPYSVYRDTCNSSLASLRLK SK QHSSFGY-SSLQSPGSSLNACQYNS----

図8 Pitx 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatretus_burgeri_Lhx3/4A	PVCGGCSLPIDRFLKALERSWHASCLRCRDCQSPLSERCFSRDGALYCKEDFFRRFGTKCAGCRQGIPPSQAVRKAQERVFHLHCFAC
Branchiostoma_floridae_Lhx3	PKCAGCQVILDRFILKVLDKSWHAKCLQCSDCQAQLTDKCFSRDGHVYCKDDFFRRFGTKCAGCGQGIPTQVVRRAQDKIYHLQCFAC
Danio_rerio_Lhx3	PVCAGCNQHIVDRFILKVLDKRWHSKCLKCSDCQSQLADKCFSRGDSVYCKDDFFKRFGTKCAACQQGIPTQVVRRAQDFVYHLHCFAC
Danio_rerio_Lhx4	PQCAGCSQHILDKFILKVLDKRWHSKCLKCADCHALLADKCFSRAGNVYCKEDFFKRFGTKCASCQQGIPTQVVRKAQDFVYHLHCFAC
Salmo_salar_Lhx3	PVCAGCNQHIVDRFILKVLDKRWHSKCLKCSDCQSQLADKCFSRGDSVYCKEDFFKRFGTKCAACQQGIPTQVVRRAQDFVYHLHCFAC
Xenopus_laevis_Lhx3	PQCAGCNQHIVDRFILKVLDKRWHSKCLKCNDCQIQLAEKCFSRGDSVYCKDDFFKRFGTKCAACQQGIPTQVVRRAQDFVYHLHCFAC
Xenopus_tropicalis_Lhx4	PRCSGCNEHILDKFILKVLDKRWHSACLKCECQVPLAERCIFYRAGNVYCKEDFFKCFGTCTACQQGIPTQVVRKAQDFVYHLHCFSC
Gallus_gallus_Lhx3	PLCAGCNQHIVDRFILKVLDKRWHSKCLKCSDCQSQLAEKCFSRGDSVYCKEDFFKRFGTKCAACQQGIPTQVVRRAQDFVYHLHCFAC
Gallus_gallus_Lhx4	PQCAGCSQHILDKFILKVLDKRWHSACLKADCQMQLAERCIFYRAGSVYCKEDFFKRFGTKCTACQQGIPTQVVRKAQDFVYHLHCFAC
Anolis_carolinensis_Lhx4	PQCAGCNQHILDKFILKVLDKRWHSACLKADCQMQLAERCIFYRAGSVYCKEDFFKRFGTKCTACQQGIPTQVVRKAQDFVYHLHCFAC
Mus_musculus_Lhx3	PMCAGCDQHILDRFILKALDRHWSKCLKCSDCQVPLAERCIFYRAGSVYCKDDFFKRFGTKCAACQLGIPTQVVRRAQDFVYHLHCFAC
Mus_musculus_Lhx4	PQCAGCNQHILDKFILKVLDKRWHSACLKADCQMQLAERCIFYRAGSVYCKEDFFKRFGTKCTACQQGIPTQVVRKAQDFVYHLHCFAC
Eptatretus_burgeri_Lhx3/4A	SLCGRQLATGDLFYLLDDARLVLCQHDYPGTAHRDSEVDGAARKPRPTTITAKQLETLKNAYKSSPKPARHVREQLASSETGLDMRVVQV
Branchiostoma_floridae_Lhx3	IMCKRQLATGDEFYLMEDAKLVCKSDYEAARKREMELEGTQKRPTTITAKQLETLKQAYQNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Danio_rerio_Lhx3	IVCKRQLATGDEFYLMEDSRLVCKADYETAKQR--EADSTAKRPTTITAKQLETLKNAYNNSPKPARHVREQLSTETGLDMRVVQV
Danio_rerio_Lhx4	VMCSRQLATGDEFYLMEDGRVLCKEDYETAKQND-DSETGAKRPTTITAKQLETLKSAYKNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Salmo_salar_Lhx3	IVCKRQLATGDEFYLMEDSRLVCKADYETAKQR--EADSTAKRPTTITAKQLETLKNAYNNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Xenopus_laevis_Lhx3	IVCKRQLATGDEFYLMEDSRLVCKADYETAKQR--EAESTAKRPTTITAKQLETLKNAYNNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Xenopus_tropicalis_Lhx4	IICSRQLATGDEFYLMEDGRVLCKEDYETAKQND-DSEGGAKRPTTITAKQLETLKNAYKNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Gallus_gallus_Lhx3	IVCKRQLATGDEFYLMEDSRLVCKADYETAKQR--EAESTAKRPTTITAKQLETLKNAYNNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Gallus_gallus_Lhx4	IICSRQLATGDEFYLMEDGRVLCKEDYETAKQND-DSEAGAKRPTTITAKQLETLKNAYKNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Anolis_carolinensis_Lhx4	IICNRQLATGDEFYLMEDGRVLCKEDYETAKQND-DSEAGAKRPTTITAKQLETLKNAYKNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Mus_musculus_Lhx3	VVCKRQLATGDEFYLMEDSRLVCKADYETAKQR--EAEATAKRPTTITAKQLETLKSAYNTSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV
Mus_musculus_Lhx4	IICNRQLATGDEFYLMEDGRVLCKEDYETAKQND-DSEAGAKRPTTITAKQLETLKNAYKNSPKPARHVREQLSSETGLDMRVVQV

図9 Lhx3/4 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatretus_burgeri_8/17	ICMNKKGKLVGKKRGKGPECVFKEIVLENNYTALESVKFAGWYMGFTRKGRPRKGSQTRQHOREVHFMRKFQR
Lampetra_fluviatilis_Fgf8/17	ICMNKKGKLVGKKEGKDTDCVFKEIVLENNYTALESVMYGGWYMGFTRKGRPRKGSQTSQHOREVHFMRKFQR
Lethenteron_camtschaticum_Fgf8/17	ICMNKKGKLVGKKEGKDTDCVFKEIVLENNYTALESVMYGGWYMGFTRKGRPRKGSQTSQHOREVHFMRKFQR
Homo_sapiens_Fgf8	ICMNKKGKLIASNGKGKDCVFTEIVLENNYTALQNAKYEGWYMAFTRKGRPRKGSKTRQHOREVHFMRKRLPR
Danio_rerio_Fgf8	ICMNRGKLIIGKKNGLGKDCIFSEIVLENNYTALQNVKYEGWYMAFTRKGRPRKGSKTRQHOREVHFMRKRLPK
Gallus_gallus_Fgf8	ICMNKKGKLIIGKSNKGKDCVFTEIVLENNYTALQNAKYEGWYMAFTRKGRPRKGSKTRQHOREVHF-----
Xenopus_tropicalis_Fgf8	ICMNKKGKLIGKTSRGKDCVFSEIVLENNYTALQNVKYEGWYMAFTRRGRPRKGSKTRQHOREVHFMRKRLPK
Mus_musculus_Fgf8	ICMNKKGKLIASNGKGKDCVFTEIVLENNYTALQNAKYEGWYMAFTRKGRPRKGSKTRQHOREVHFMRKRLPR
Anolis_carolinensis_Fgf8	ICMNKKGKLIGKSNKGKDCVFTEIVLENNYTALQNAKYEGWYMAFTRKGRPRKGSKTRQHOREVHFMRKRLPK

図10 Fgf8/17 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

Eptatrerus burgeri_SoxB1	DLGEMISMYLPASSGAGVGGAAAAAVALA	EAVDPSARRIHGLPQHY---ASSGLAGTLPLTHI
Danio_rerio_Sox1a	---DLREMISMYLP-TGESGDP-----	SVQSRHLHALPQHYQ-STTAGVNGTVPLTHI
Xenopus_laevis_Sox1	---DLREMISMYLPGGGEGADPAAAAAAAAA	ATSRHLHSLPQHYQ-GTGTGITSTMPPLTHI
Gallus_gallus_Sox1	---DLREMISMYLP-GGEGGDP-----	AAAAAQSRHLHSLPQHYQ-SASTGVNGTVPLTHI
mus_musculus_Sox1	---DLREMISMYLP-AGEGGDP-----	AAAAAAQSRHLHSLPQHYQ-GAGAGVNGTVPLTHI
Danio_rerio_Sox3	CLGDLRDMISMYLP-PG--GDA-----	TD-PSALQGSRLHSVHQHYQ-SAGTAVNGTVPLTHI
Xenopus_laevis_Sox3	CLGDLRDMISMYLP-PG--GDA-----	SD--PSLQNSRLHSVHQHYQSAAGPGVNGTVPLTHI
Gallus_gallus_Sox3	CLGDLRDMISMYLP-PG--GDA-----	ADAASPLPGGRLHGVHQHYQ-GAGTAVNGTVPLTHI
Mus_musculus_Sox3	CLGDLRDMISMYLP-PG--GDA-----	TD-PSALQGSRLHSVHQHYQ-SAGTAVNGTVPLTHI

図 11 SoxB 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

tus_burgeri_Tbx1/10A	LVAGKADPAMPGRVHVHPDSPARGAQWMKQVVSF	DKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRLHV	VYADPRKDSERYAQQNFKTFVFEETR
eron_camtschaticum_Tbx1/10A	LVAGKADPAMPGRVHVHPDSPARGATWMKQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVFVDPVVGSEERADQNFKSFVFEETR
eron_camtschaticum_Tbx1/10B	LVAGRADPSPMPGRVHVHPESPARGDAWMKQ	TVAFDKLKLNNHALDDNGHIILNSMHRYQ	PRLHVVLVEPGARSEERRAQLNFRTF
erio_Tbx1	LVAGKADPATPGRVHYHPDSPAKGAQWMKQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVYVDPKDKSEKYAEENYKTFVFEETR
nchus_mykiss_Tbx1a	LVAGKADPATPGRVHYHPDSPAKGAQWMKQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVYVDPKDKSEKYAEENYKTFVFEETR
_tropicalis_Tbx1	LVAGKADPATPGRVHYHPDSPAKGAQWMKQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVYVDPKDKSEKYAEENFKTFVFEETR
culus_Tbx1	LVAGKADPATPGRVHYHPDSPAKGAQWMKQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVYVDPKDKSEKYAEENFKTFVFEETR
carolinensis_Tbx10	LVAGKADPATPGRVHFHPDSPAKGGQWMRQIVS	FDKLKLNNLMDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVVDPRPDCEERYAQENFKSFIFTETQ
gallus_Tbx10	LVAGRADPAAPGRVHFHPDSPAKGAQWMRQIVS	FDKLKLNNLLDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVLVDPRRDSERFAHQNFKSFSFPETQ
culus_Tbx10	LVAGKADPATPGRVHFHPDSPAKGAQWMRQIVS	FDKLKLNNLMDDNGHIILNSMHRYQPRFH	VVFVDPKDKSARYAQENFKSFVFTETQ

tus_burgeri_Tbx1/10A	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	FRDCEPDEWPRAH
eron_camtschaticum_Tbx1/10A	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAK-----	
eron_camtschaticum_Tbx1/10B	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGFS-----	
erio_Tbx1	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	FRDCDPEDWPRNH
nchus_mykiss_Tbx1a	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	FRDCDPEDWPRNH
_tropicalis_Tbx1	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	FRDCDPEDWPRNH
culus_Tbx1	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	FRDCDPEDWPRNH
carolinensis_Tbx10	FMAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	RECEPDEW----
gallus_Tbx10	FMAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	RDGEFEPWCGAT
culus_Tbx10	FTAVTAYQNHRITQLKIASNPFAKGF	READPDSWPVTP

図 12 Tbx1/10 遺伝子に保存された領域のマルチプルアライメント

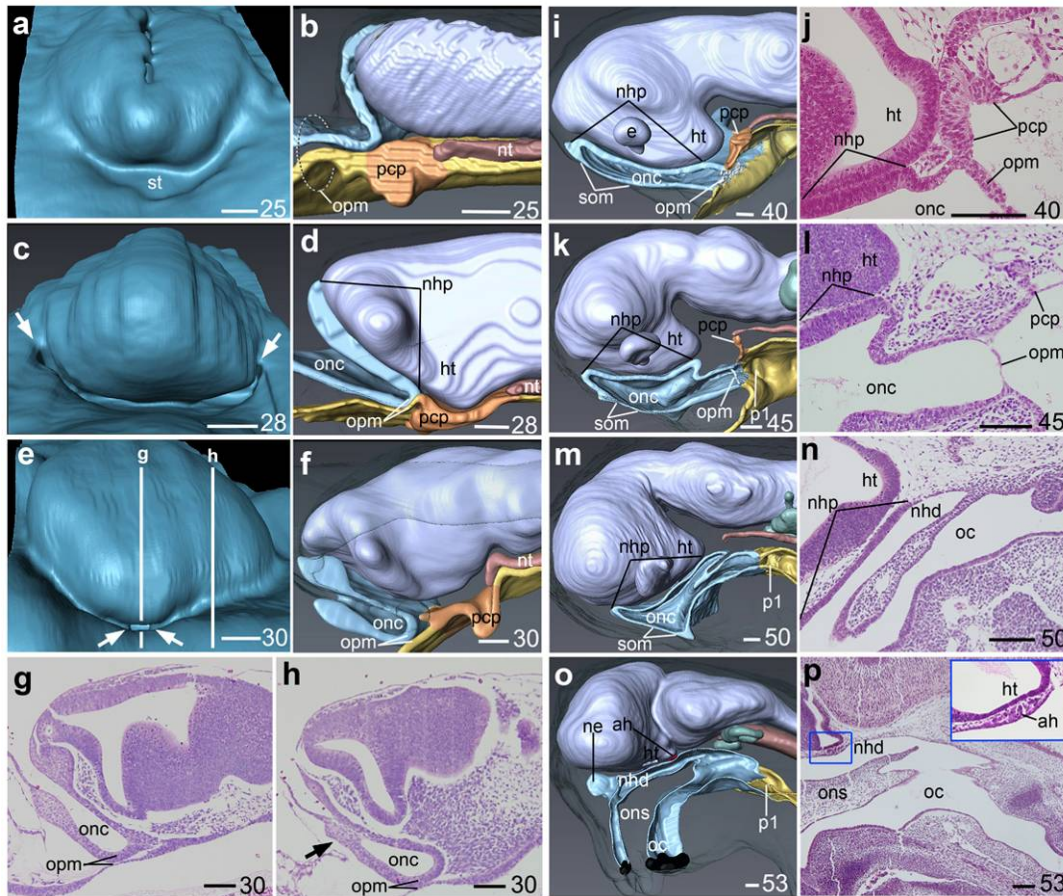


図 13. ヌタウナギの頭部発生

(a, c, e) ヌタウナギ頭部正面の 3D 復元図。口部前端は上下の外胚葉が、左右から正中に向かって癒合することにより形成される二次口咽頭膜により閉鎖される(白矢印)。(b, d, f) ヌタウナギ頭部側面の 3D 復元図。口窩が前脳の前端で外/内胚葉境界を形成する(点線)。口窩は、前脳の成長に伴い沈み込み口咽頭膜を形成する。(g, h) 図 e のラインの位置の H-E 切片。中央部では、口鼻下垂体腔が外部に開くが、側面では二次口咽頭膜(黒矢印)により閉じられる。(i-p) ヌタウナギ頭部側面の 3D 復元と切片。p 内の青の囲いは、視床の下に生じた腺性下垂体をしめす。口咽頭膜はステージ 45 以降は完全に消失する。そのために口咽頭膜の元来の位置は、口咽頭膜の後端の咽頭内胚葉前端に生じる第 1 咽頭嚢の位置により推定される。腺性下垂体は、視床の下の外胚葉性の肥厚(下垂体プラコード)から生ずることを示している。番号は発生ステージを示す。ah, 腺性下垂; e, 眼 (eye); ht, 視床 (hypothalamus); nhd, 鼻下垂体腔 (nasohypophyseal duct); nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate); onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity); ons, 口鼻下垂体隔壁 (oronasohypophyseal septum); opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane); pc, 脊索前板 (prechordal plate); p1, 第 1 咽頭嚢 (pharyngeal pouch 1); som, 二次口咽頭膜 (secondary oropharyngeal membrane), st, 口窩 (stomodeum). Bars, 100 μ m (a-p).

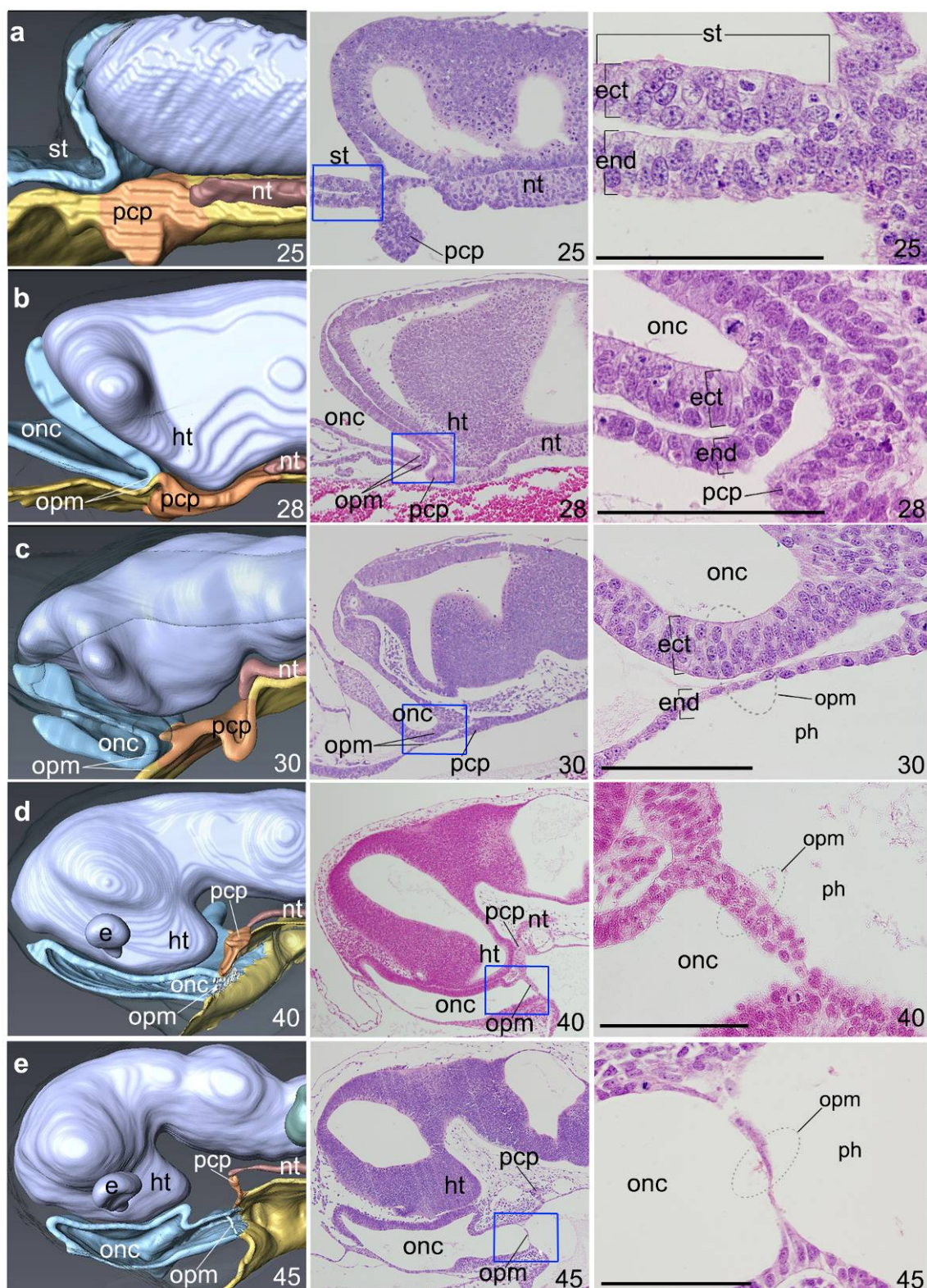


図 14. ヌタウナギの口咽頭膜の発生過程

(a-e) 左はヌタウナギ頭部側面の 3D 復元図。中央は H-E 切片。右は中央図の青の囲いの拡大図。青, 外胚葉. 黄色, 内胚葉. 橙, 内中胚葉. (a) ステージ 25 では、前脳の前端では外胚葉と内胚葉が隣接し、後の口窩領域 (st) を形成する。(b, c) ステージ 28-30 においては、前脳の成長に伴い、口窩は深くなり、口咽頭膜は将来の視床 (ht) の下部に位置する。この時期、口咽頭膜 (opm) の分解が進み、また癒合することで外/内胚葉の境界は不明瞭となる。(d, e) ステージ 40~45 では、口咽頭膜の分解が進む。番号は発生ステージを示す。e, 眼 (eye) ; ht, 視床 (hypothalamus) ; nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane) ; pcp, 脊索前板 (prechordal plate) ; som, 二次口咽頭膜 (secondary oropharyngeal membrane) , st, 口窩 (stomodeum) . Bars, 100 μ m (a-e) .

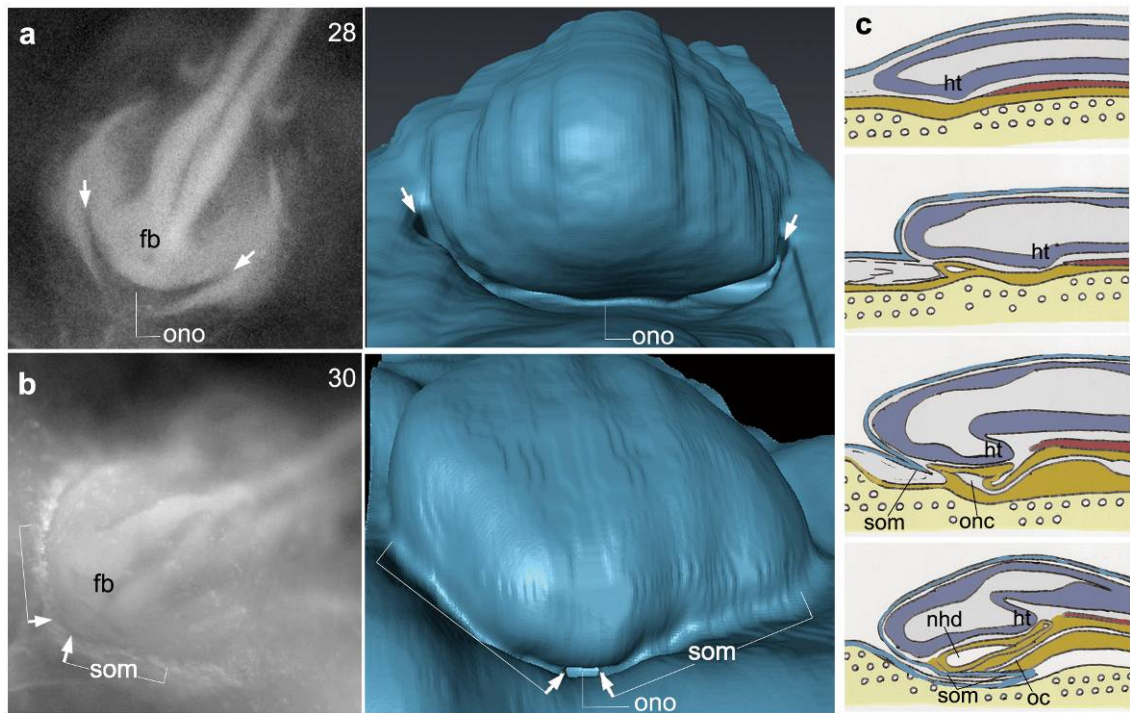


図 15. ヌタウナギの二次口咽頭膜の発生過程

(a-b) 左はヌタウナギ頭部正面の図。右は 3D 復元図。(a) 頭部前端では、口鼻下垂体孔 (ono) が外部に開く。(b) 左右から上下の外胚葉が癒合し、二次口咽頭膜 (som) を形成することで、口鼻下垂体孔は二次的に閉鎖される。(c) 先行研究において、ヌタウナギの鼻下垂体腔 (nhd) は内胚葉領域に由来するという誤った報告がなされていた。その原因は、以前の解釈においては、外胚葉性の二次口咽頭膜が、外/内胚葉境界を形成する口咽頭膜として誤って同定されていた。しかし、真の口咽頭膜は明らかに鼻下垂体腔の後端に位置している (図 5 および図 6 参照)。番号は発生ステージを示す。ht, 視床 (hypothalamus) ; nhd, 鼻下垂体腔 (nasohypophyseal duct) ; oc, 口腔 (oral cavity) ; onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; ono, 口鼻下垂体口 (oronasohypophyseal opening) ; opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane) ; pcp, 脊索前板 (prechordal plate) ; som, 二次口咽頭膜 (secondary oropharyngeal membrane) .

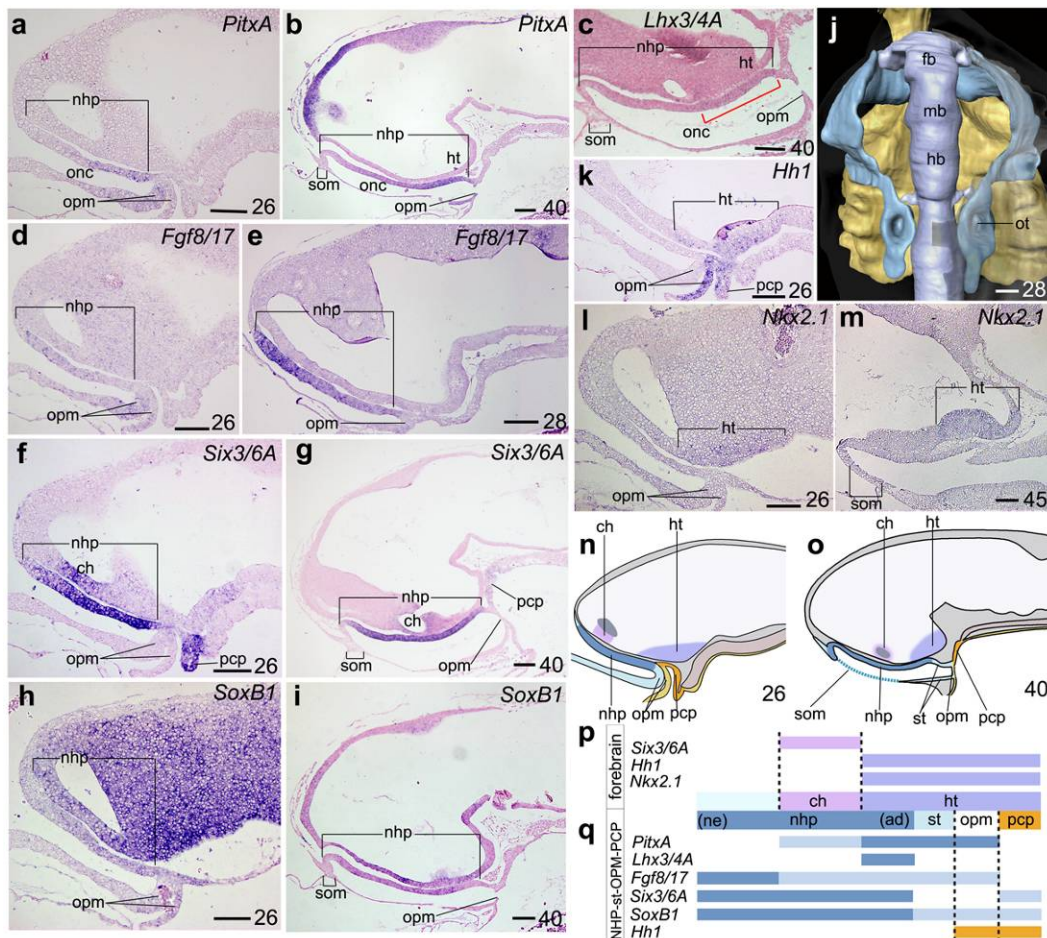


図 16. ヌタウナギの NHP の発生に関わる遺伝子発現

(a, b) *PitxA* は口咽頭膜 (opm)、口腔、および NHP 後方部の下垂体プラコードを含む外胚葉領域に発現する。(c) *Lhx3/4A* は視床 (ht) に隣接した NHP の後方部の下垂体プラコードに発現する。(d, e) *Fgf8/17* は、NHP の前方部の鼻プラコード領域に発現する。(f, g) *Six3/6A* は、NHP の全体に発現する。また脊索前板 (pcp)、視床の前方に位置する視交叉 (ch) においても発現する。(h, i) *SoxB1* も、NHP の全体に発現する。また中枢神経においても発現する。(j) ヌタウナギの NHP は馬蹄形状の外胚葉性肥厚の中央部に位置する。(k) *Hh1* は視床、脊索前板、口咽頭膜の内胚葉側に発現する。(l, m) *Nkx2.1* は視床特異的に発現する。(n, o) ステージ 26 と 40 の模式図。(p, q) 視床 (p) と NHP (q) の発生に関与する遺伝子発現のパターン。ヌタウナギは他の脊椎動物と同様の分子メカニズムで、外胚葉領域に腺性下垂体を形成する。また、鼻プラコードと下垂体プラコードは発生を通じて結びついた NHP を形成する。ch, 視交叉 (chiasma) ; ht, 視床 (hypothalamus) ; hb, 後脳 (hindbrain) ; mb, 中脳 (midbrain) ; nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane) ; ot, 耳プラコード (otic placode) ; pcp, 脊索前板 (prechordal plate) ; som, 二次口咽頭膜 (secondary oropharyngeal membrane) .Bars, 100 μ m (a-m) .

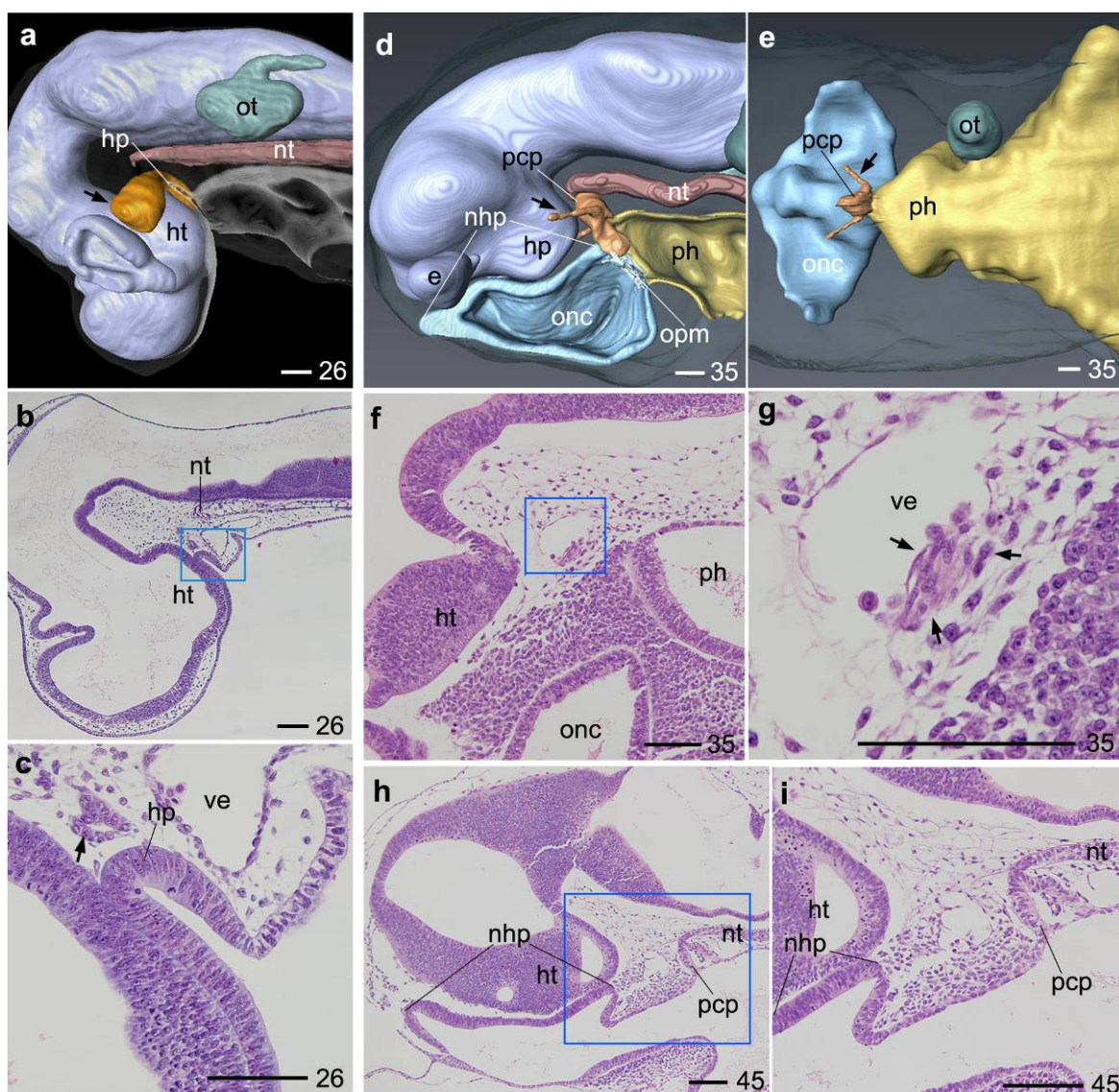


図 17. サメとヌタウナギの腺性下垂体と脊索前板の発生

(a-c) サメ胚側面の 3D 復元図、H-E 切片、および青の囲い部の拡大図。(d-g) ステージ 35 のヌタウナギ胚。(d, e)側面と背面の 3D 復元図。脊索前方の咽頭内胚葉との融合領域である脊索前板から、突起状の構造が形成されている。(f, g) 側面の切片と青の囲いの拡大図。(h, i) ステージ 45 の側面の切片と青の囲いの拡大図。先行研究では、ヌタウナギの脊索前板から、下垂体プラコードが生じると考えられていた。しかし、脊索前板二次的に視床からはなれ、明瞭な構造を形成しない。ah, 下垂体プラコード (adenohypophyseal placode) ; e, 眼 (eye) ; ht, 視床 (hypothalamus) ; nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; nt, notochord (notochord) ; onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane) ; pc, 脊索前板 (prechordal plate) ; ve, vessel 番号は発生ステージをしめす。Bars, 100 μ m (a-i) .

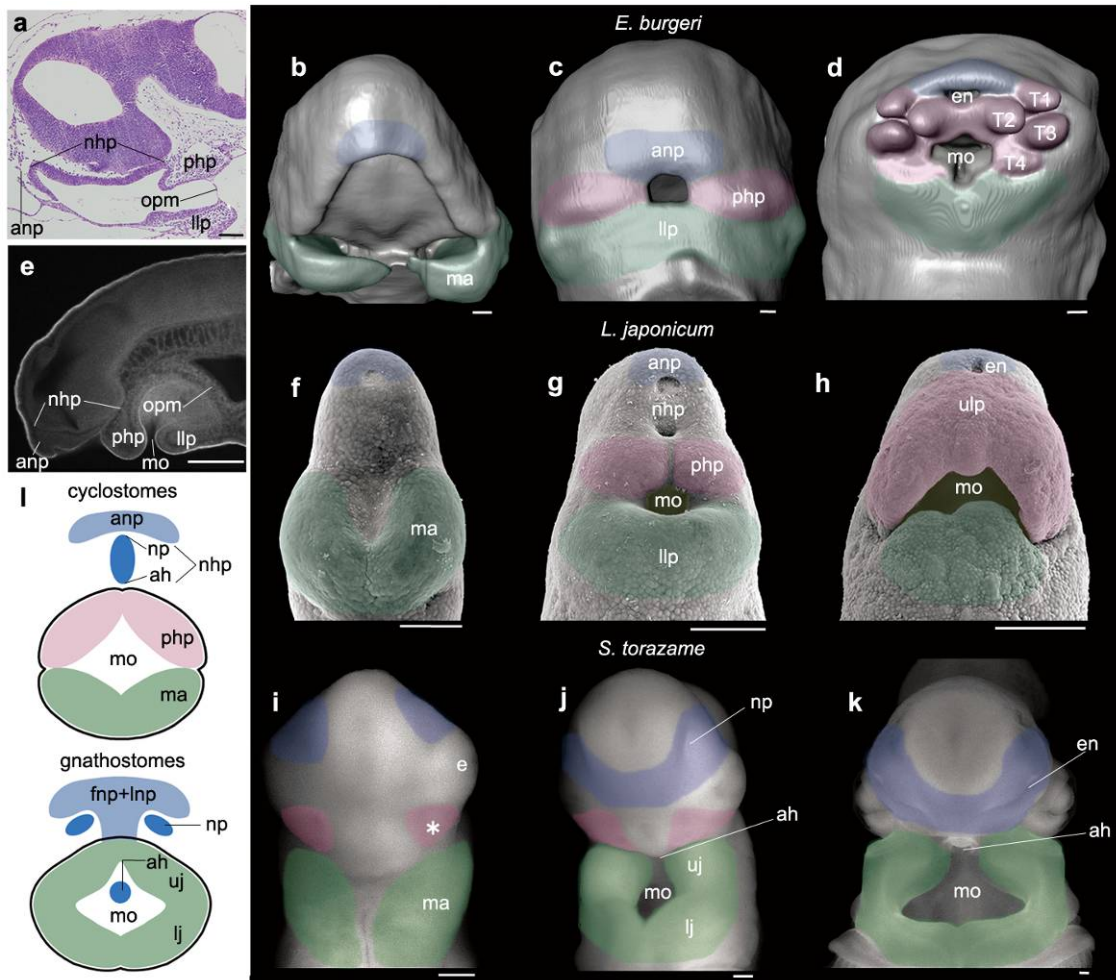


図 18. 円口類と顎口類の頭部発生の比較

(a) ヌタウナギ *E.burgeri* 胚のステージ 45 の正中部の HE 切片。(b) ヤツメウナギ *L. japonicum* 胚ステージ 25 の正中部の共焦点顕微鏡切片。ヌタウナギとヤツメウナギでは、NHP の前後には前鼻突起 (anp) および後下垂体突起 (php) が位置する。(b-d) ヌタウナギの腹側からの外観の 3D 復元。(f-h) ヤツメウナギの腹側からの外観の電子顕微鏡写真。(i-k) サメ *S. torazame* の腹側からの外観の光学顕微鏡写真。(l) 頭部形成の模式図。ヌタウナギとヤツメウナギでは、口腔の両側に位置する後下垂体突起が口部構造に組み込まれる。一方サメでは、口部は顎骨弓 (ma) から形成される。そのために、前顎領域 (アスタリスク) は口部の形成には関与しない。ah, 腺性下垂体 (adenohypophysis) ; anp, 前鼻突起 (anterior nasal process) ; e, 眼 (eye) ; en, 鼻孔 (external nostril [s]) ; lj, 下顎 (lower jaw) ; llp, 下唇 (lower lip) ; ma, 第 1 咽頭弓 (mandibular arch) ; mo, 口 (mouth) ; nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; np, 鼻プラコード (nasal placode) ; opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane) ; php, 後下垂体突起 (post-hypophyseal process) ; uj, 上顎 (upper jaw) ; ulp, 上唇 (upper lip) . 番号は発生ステージをしめす。Bars, 100 μ m (a-k) .

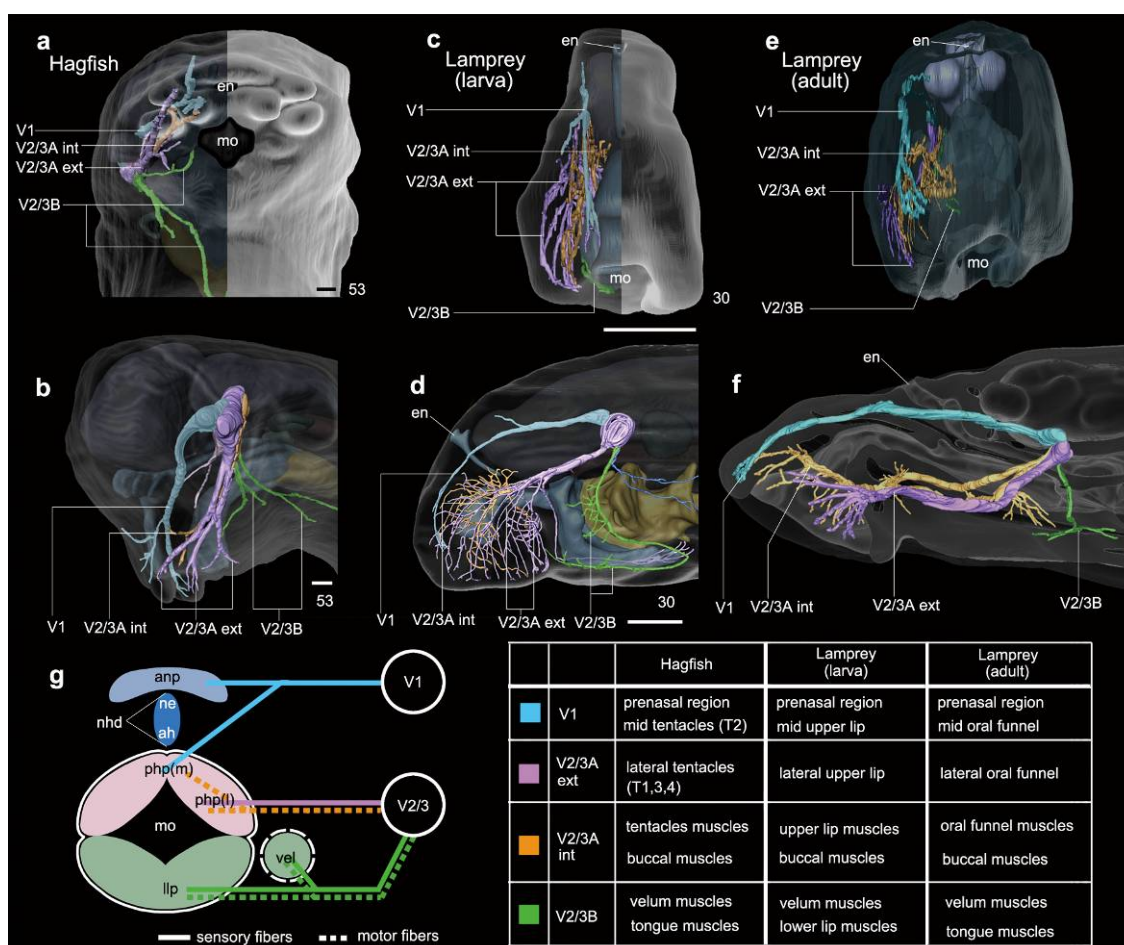


図 19. ヌタウナギとヤツメウナギの三叉神経支配のパターン

(a, b) ヌタウナギの三叉神経の支配パターン。ヌタウナギにおいて V1 枝は感覚神経のみを含み、正中の触手 2 を神経支配する。V2/3A 外側枝 (V2/3A ext) は側面の触手 1, 3, 4 を神経支配する。V2/3A 内側枝 (V2/3A int) は運動神経を含み、触手および口部の筋肉を神経支配する。V2/3B は感覚枝と運動枝を含み縁膜と下唇の筋を含めた領域を神経支配する。(c, d) ヤツメウナギのアンモシーテス幼生の三叉神経の支配パターン。ヤツメウナギのアンモシーテス幼生においても V1 枝は感覚神経のみを含み、上唇の中央部を神経支配する。V2/3A 外側枝 (V2/3A ext) は上唇の側面部を神経支配する。V2/3A 内側枝 (V2/3A int) は運動神経を含み、上唇および口部の筋肉を神経支配する。V2/3B は感覚枝と運動枝を含み縁膜と下唇の筋を含めた領域を神経支配する。(e, f) ヤツメウナギの成体の三叉神経支配のパターン。ヤツメウナギのアンモシーテス幼生の三叉神経の支配パターン。ヤツメウナギの成体の三叉神経支配は基本的にアンモシーテスのパターンと類似する。(g) 円口類の三叉神経の支配パターンの模式図。2 種の円口類において等価な発生および解剖学的な要素は、等価な三叉神経枝により神経支配される。ah, 腺性下垂体 (adenohypophysis); anp, 前鼻突起 (anterior nasal process); en, 鼻孔 (external nostril); llp, 下唇 (lower lip); nhd, 鼻下垂体腔 (nasohypophyseal duct); ne, 嗅上皮 (nasal epithelium); mo, 口 (mouth); php, 後下垂体突起 (post-hypophyseal process); vel, 縁膜 (velum)。番号は発生ステージをしめす。Bars, 100 μ m (a-d)。

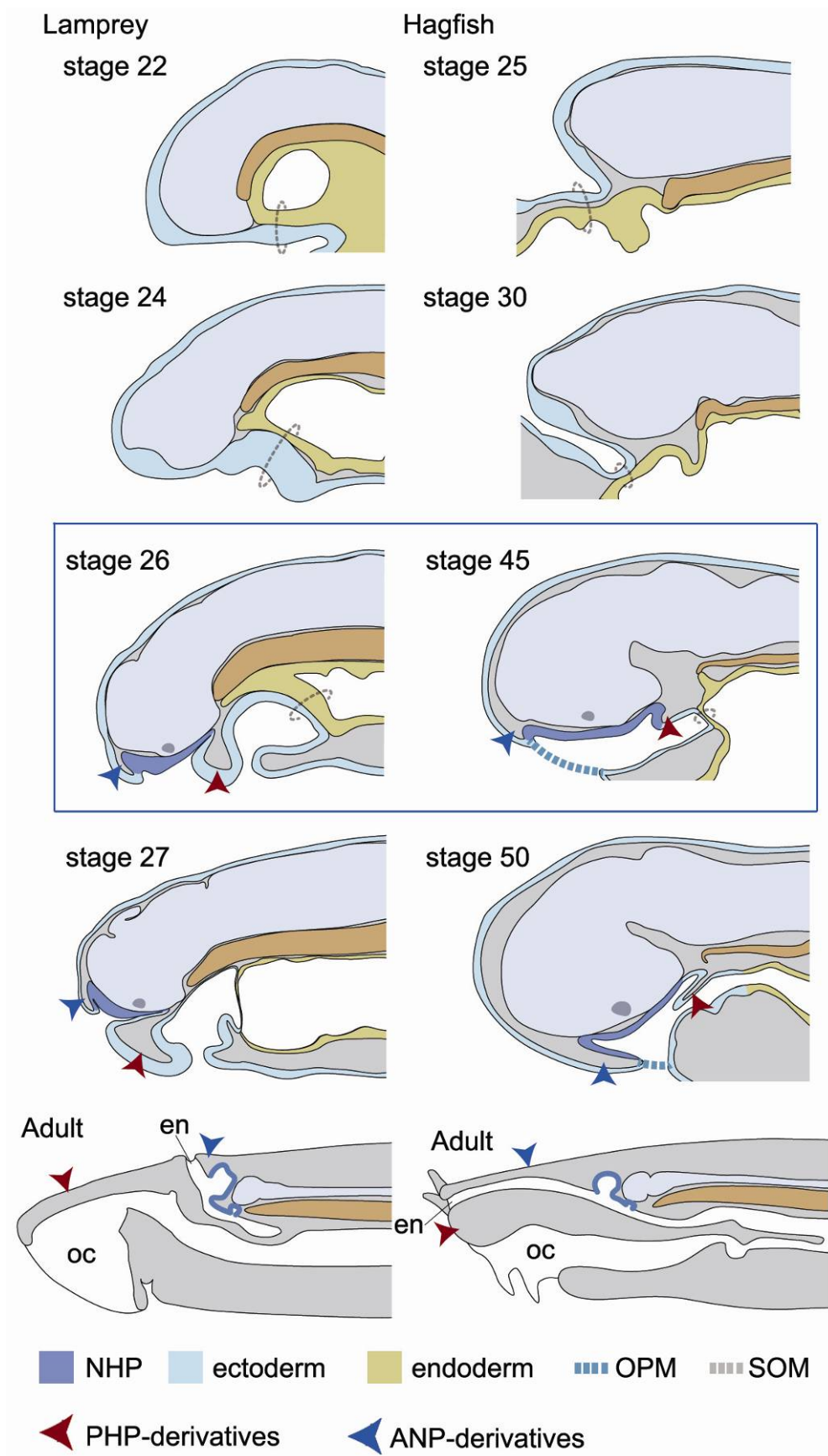


図 20. ヤツメウナギとヌタウナギの頭部発生と比較

ヤツメウナギ（左図）とヌタウナギ（右図）の頭部発生パターンは、咽頭胚中期（青の四角）において最も類似したパターンを示す。このステージでは、外胚葉性の下垂体プラコードと鼻プラコードが1つながりの鼻下垂体板（NHP）を形成する。この NHP の前後は間葉を含む突起により仕切られる。その前方部は前鼻突起、後部は後下垂体突起である。このステージ以降、ヤツメウナギでは後下垂体突起は鼻孔を先端背側へ押し上げる上唇を形成する。一方で、ヌタウナギでは口鼻下垂体隔壁を形成する。ヌタウナギの鼻腔の後端部では、二次的にこの隔壁が破れて、交通する。anp, 前鼻突起 (anterior nasal process) en, 鼻孔 (external nostril[s]); nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate); nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; oc, 口腔 (oral cavity) ; php, 後下垂体突起 (post-hypophyseal process) .

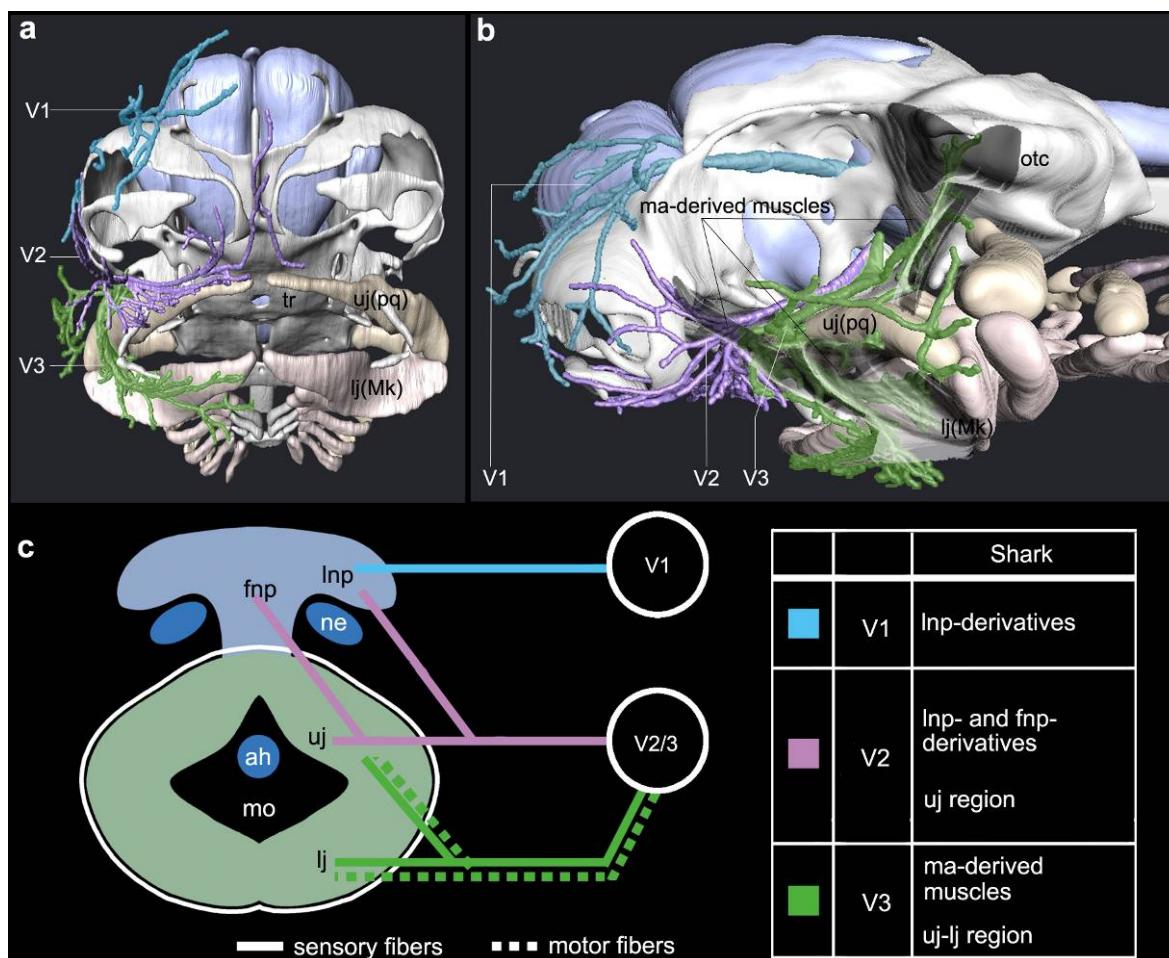


図 21. 顎口類の三叉神経支配のパターン

(a-b) サメ *S. torazame* の三叉神経の支配パターン。正面 (a) と側面 (b) の 3 次元復元。(c) サメの三叉神経の支配パターンの模式図。円口類と同様に三叉神経の感覚枝のみを含む V1 枝と、運動を含む V2/3 枝（上下顎神経枝）からなる。上下顎神経枝は、上顎を神経支配する上顎枝 (V2) と下顎を神経支配する下顎枝 (V3) に分かれる。運動枝は V3 のみに含まれる。V2 枝は円口類の V2/3A 外側枝と類似した分布のパターンを示すが、感覚枝のみしか含まず、運動含む円口類の V2/3A とは異なる。ah, 腺性下垂体 (adenohypophysis) ; en, 鼻孔 (nostril) ; fnp, 前頭鼻突起 (frontonasal process) ; lj, 下顎 (lower jaw) ; Inp, 外側鼻突起 (lateral nasal process) ; Mk, メッケル軟骨 (Meckel's cartilage) ; mo, 口 (mouth) ; pq, 口蓋方形軟骨 (palatoquadrate) ; tr, 梁軟骨 (trabecula) ; uj, 上顎 (upper jaw) .

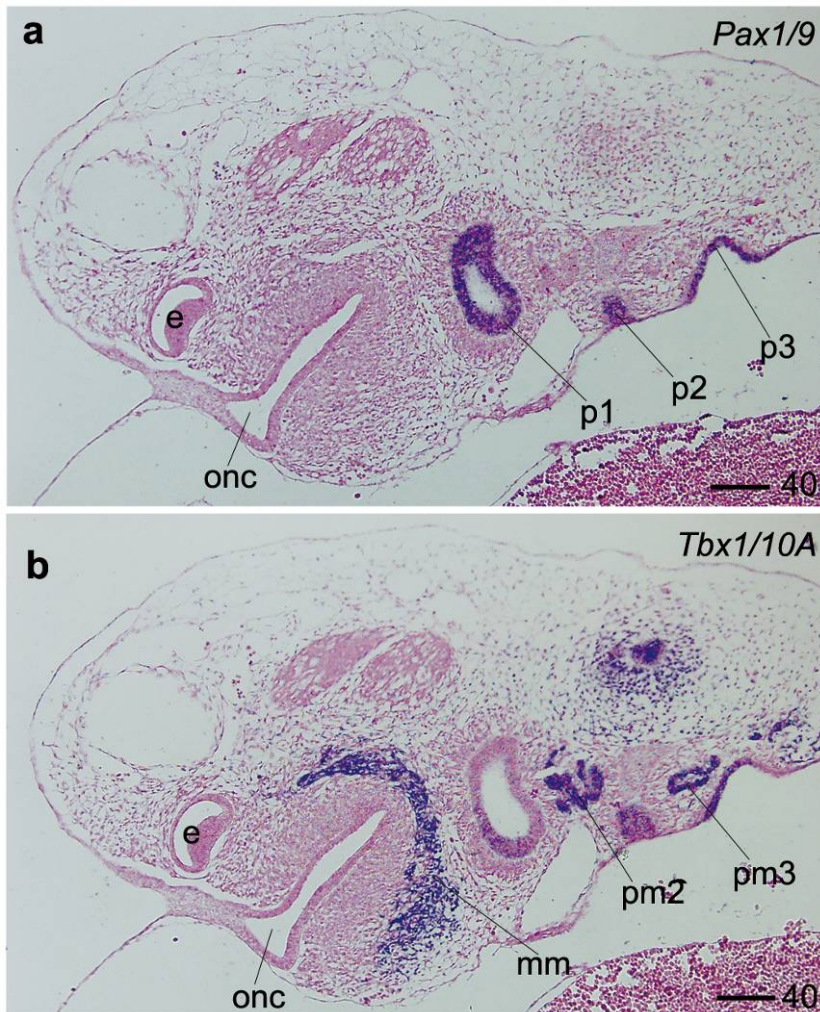


図 22. ヌタウナギの咽頭嚢と咽頭弓の発生に関与する遺伝子の発現

(a) *Pax1/9* は咽頭内胚葉から膨出した咽頭嚢 (p) に発現する。(b) *Tbx1/10A* は、各咽頭嚢の間に発生する咽頭弓中胚葉 (pm) において発現する。onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; p, 咽頭嚢 (pharyngeal pouch) ; pm, 咽頭中胚葉 (pharyngeal mesoderm) . Bars, 100 μ m (a-b) .

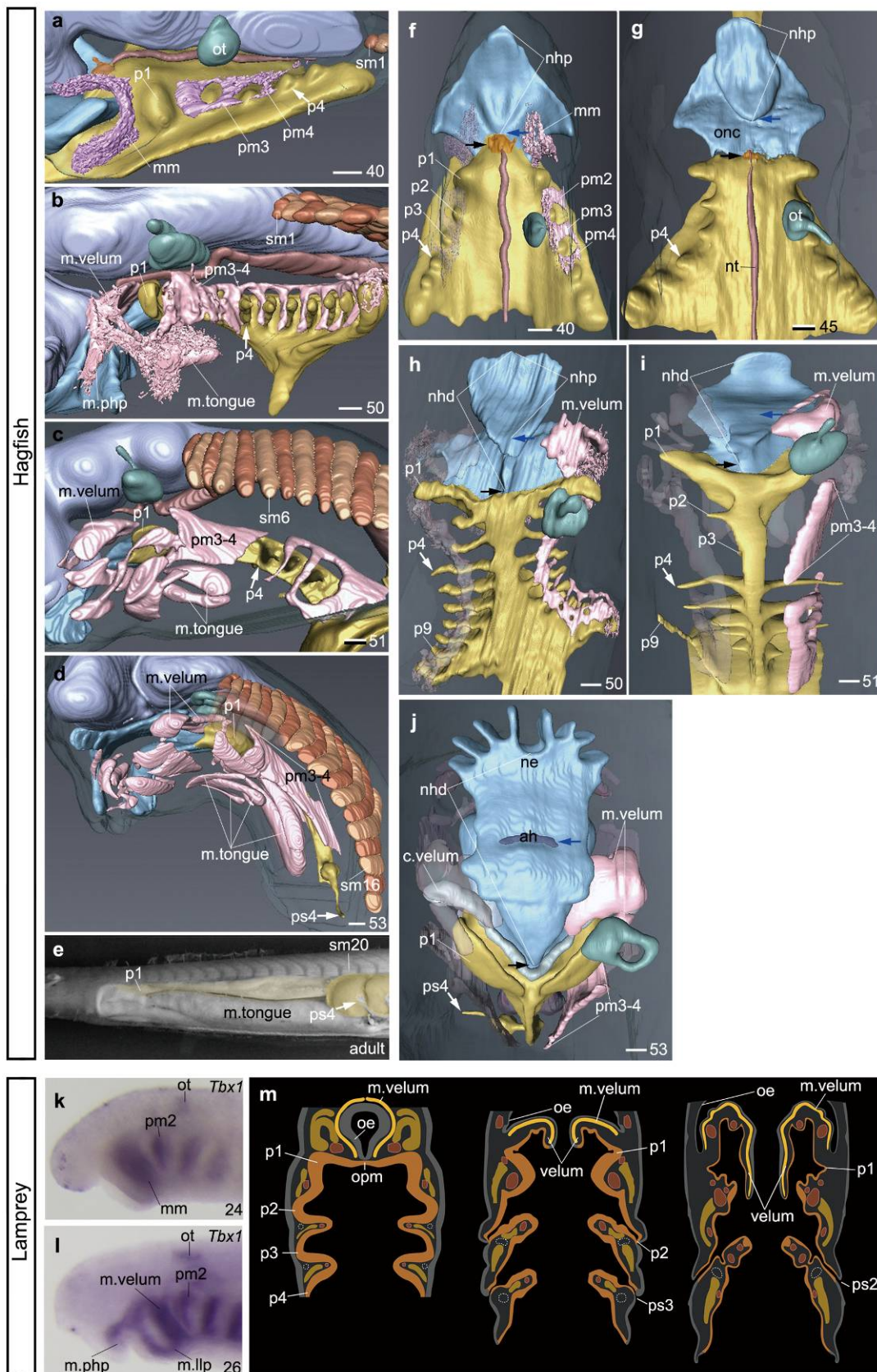


図 23. ヌタウナギとヤツメウナギにおける咽頭弓の発生

(a-d, f-j) ヌタウナギ胚の側面 (a-d) と背面 (f-i) の 3D 復元図。(e) ヌタウナギ成体の側面図。咽頭胚中期において、ヌタウナギの咽頭内胚葉から膨出する咽頭嚢 (p) および咽頭中胚葉 (pm) は分節状のパターンを示す。ヌタウナギの咽頭嚢は二次的に後方へシフトし、体幹中央部付近まで移動する (白矢印)。また第 2、3 の咽頭嚢は二次的に消失する。(f-j) 口鼻下垂体腔 (onc) に由来する鼻下垂体腔 (nhd) と口腔 (oc) は、腺性下垂体の位置に対して後方へ伸張する (黒矢印と青矢印)。また呼吸器官である縁膜を構成する縁膜中胚筋 (m. velum) および縁膜軟骨 (c. velum) は第 1 咽頭弓の内側から発生する。(k-l) ヤツメウナギ *L. japonicum* の *LjTbx1/10A* 遺伝子の発現パターン。(m) ヤツメウナギの縁膜の発生。ヤツメウナギにおいて、縁膜はヌタウナギ同様に口咽頭膜および第 1 咽頭嚢前方部に形成される。c. velum, 縁膜骨格 (velum cartilage); nhd, 鼻下垂体腔 (nasohypophyseal duct); nhp, 鼻下垂体プラコード (nasohypophyseal plate); m. velum, 縁膜中胚葉および筋 (velum mesoderm and muscle); ot, 耳胞 (otocyst); onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity); opm, 口咽頭膜 (oropharyngeal membrane); p, 咽頭嚢 (pharyngeal pouch); pm, 咽頭中胚葉 (pharyngeal mesoderm); ps, 咽頭孔 (pharyngeal slit); sm, 体節 (somites). 番号は発生ステージをしめす。Bars, 100 μ m (a-d, f-j) .

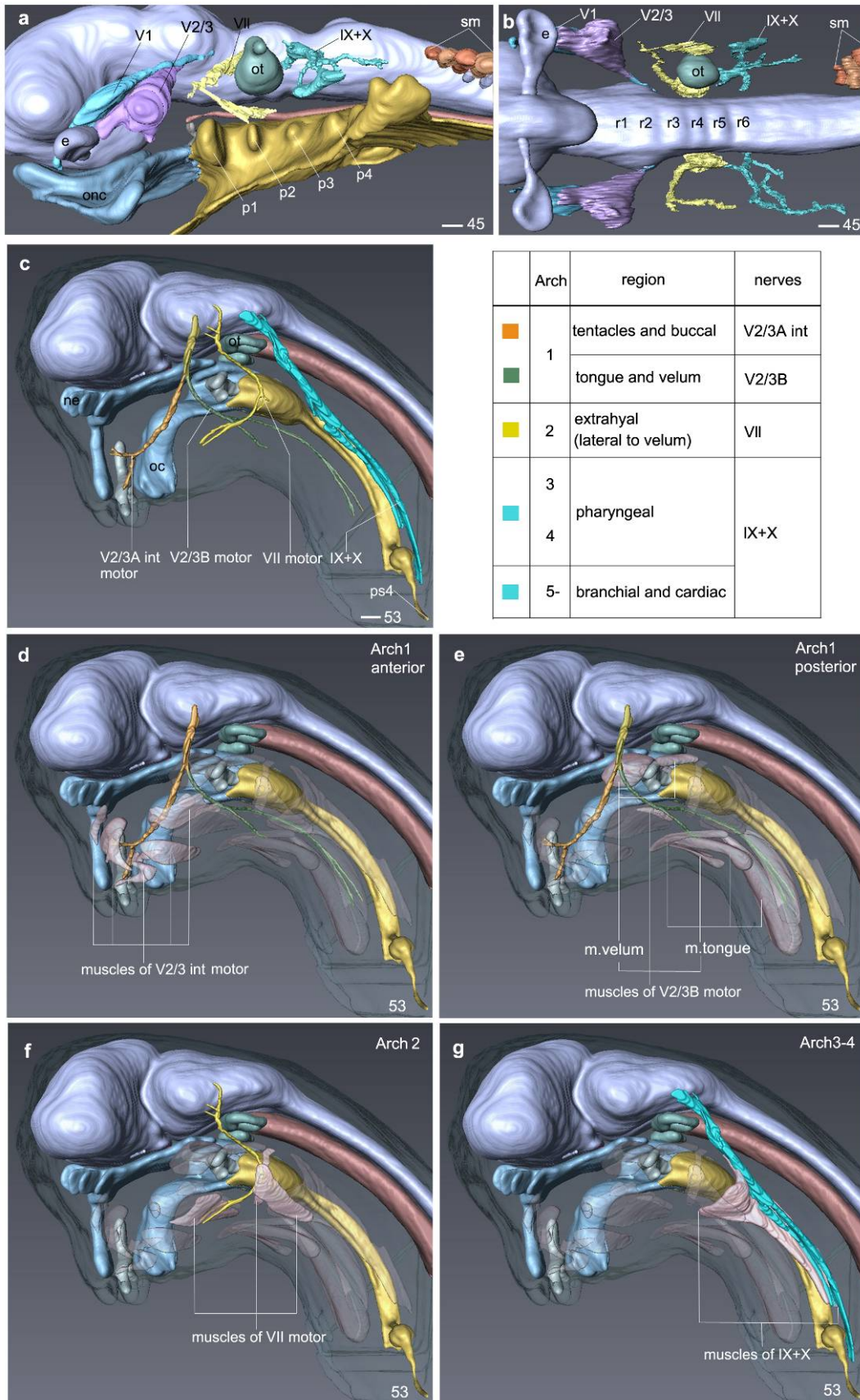


図 24. ヌタウナギの菱脳分節、脳神経、咽頭弓筋の発生

(a) ヌタウナギの脳神経の側面の 3D 復元図。(b) ヌタウナギの脳神経および菱脳分節 (ロンボメア; r1-6) 腹側面の 3D 復元図。他の脊椎動物同様に、ヌタウナギの後脳は分節したロンボメアを形成する。ロンボメアの偶数番からは特異的な脳神経が生じ、対応する咽頭弓を神経支配する。例えば、r2 からは三叉神経が生じ、r4 からは顔面神経が生じる。(c-g)それぞれの脳神経は、特定の咽頭弓に由来する筋肉を神経支配する。V 前方枝は第 1 咽頭弓より生じた触手と口部の筋肉を神経支配する。V 後方枝は第 1 咽頭弓より生じた縁膜と舌器官の筋肉を神経支配する。VII 枝は第 2 咽頭弓より生じた、第 1 咽頭弓の側面に位置する筋肉を神経支配する。IX/X は第 3-4 咽頭中胚葉より生じた咽頭筋また、以降の咽頭中胚葉より生じた鰓弓筋を神経支配する。番号は発生ステージを示す。e, 眼 (eye) ; m. tongue, 舌筋 (tongue muscle) ; m. velum, 縁膜筋 (velum muscle) ; ne, 嗅上皮 (nasal epithelium) ; oc, 口腔 (oral cavity) ; onc, 口鼻下垂体腔 (oronasohypophyseal cavity) ; ot, 耳胞 (otic vesicle) ; p, 咽頭嚢 (pharyngeal pouch) ; ps, 咽頭孔 (pharyngeal slit) . Bars, 100 μ m (a-c) .

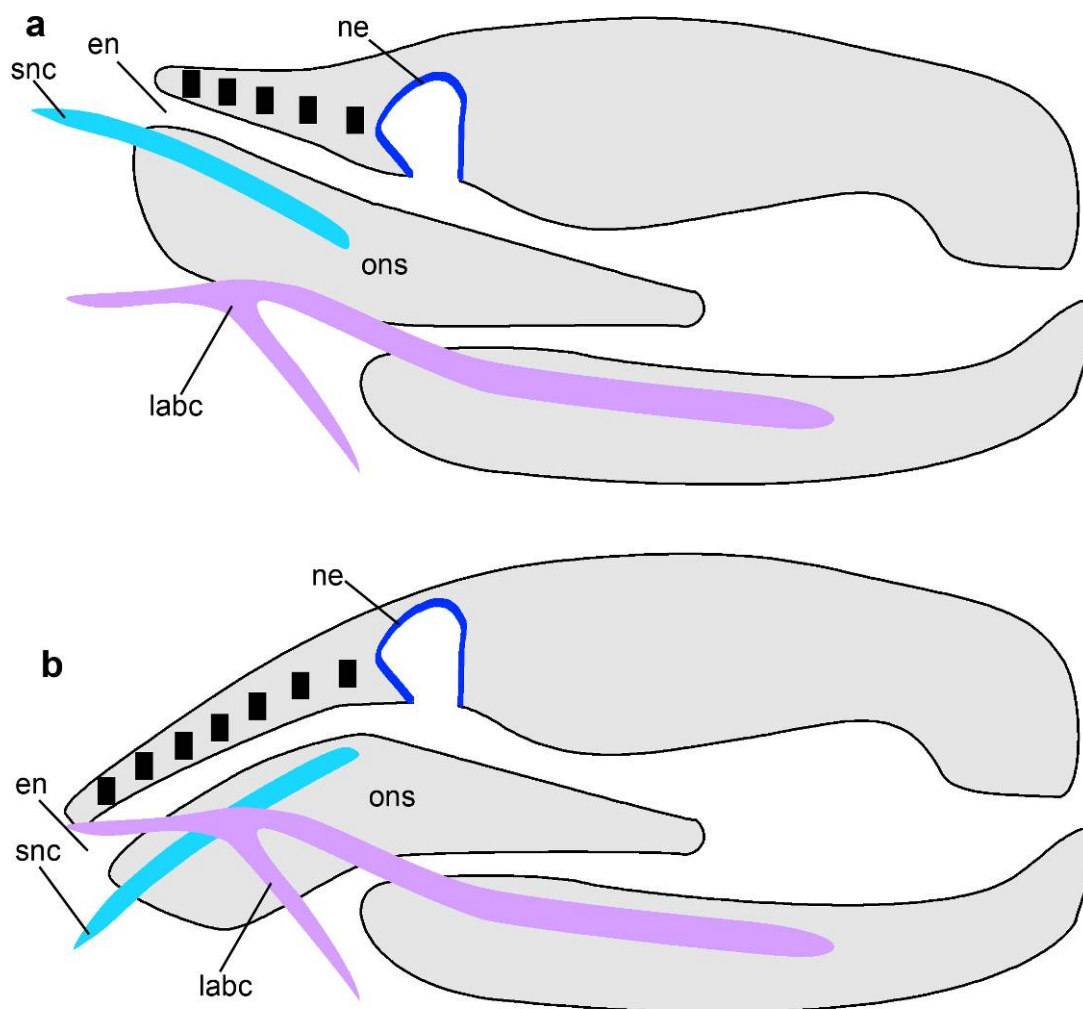


図 25. 化石種のヌタウナギ (*Myxinikela. siroka*) と現生するヌタウナギ類の頭部構造の比較

(a) 推定される *Myxinikela. siroka* の頭部構造の側面図。(b) 現生のヌタウナギ類の側面図。*M. siroka* では現生種で触手 2 を構成する副鼻軟骨が、現生種で触手 1 を構成する唇軟骨の上部に位置しており、鼻孔がより背側に開いていた可能性を示す。en, 鼻孔 (external nostril) ; labc, 唇軟骨 (labial cartilage) ; ne, 嗅上皮 (nasal epithelium) ; ons, 口鼻下垂体隔壁 (oronasohypophyseal septum) ; snc, 副鼻軟骨 (subnasal cartilage) .

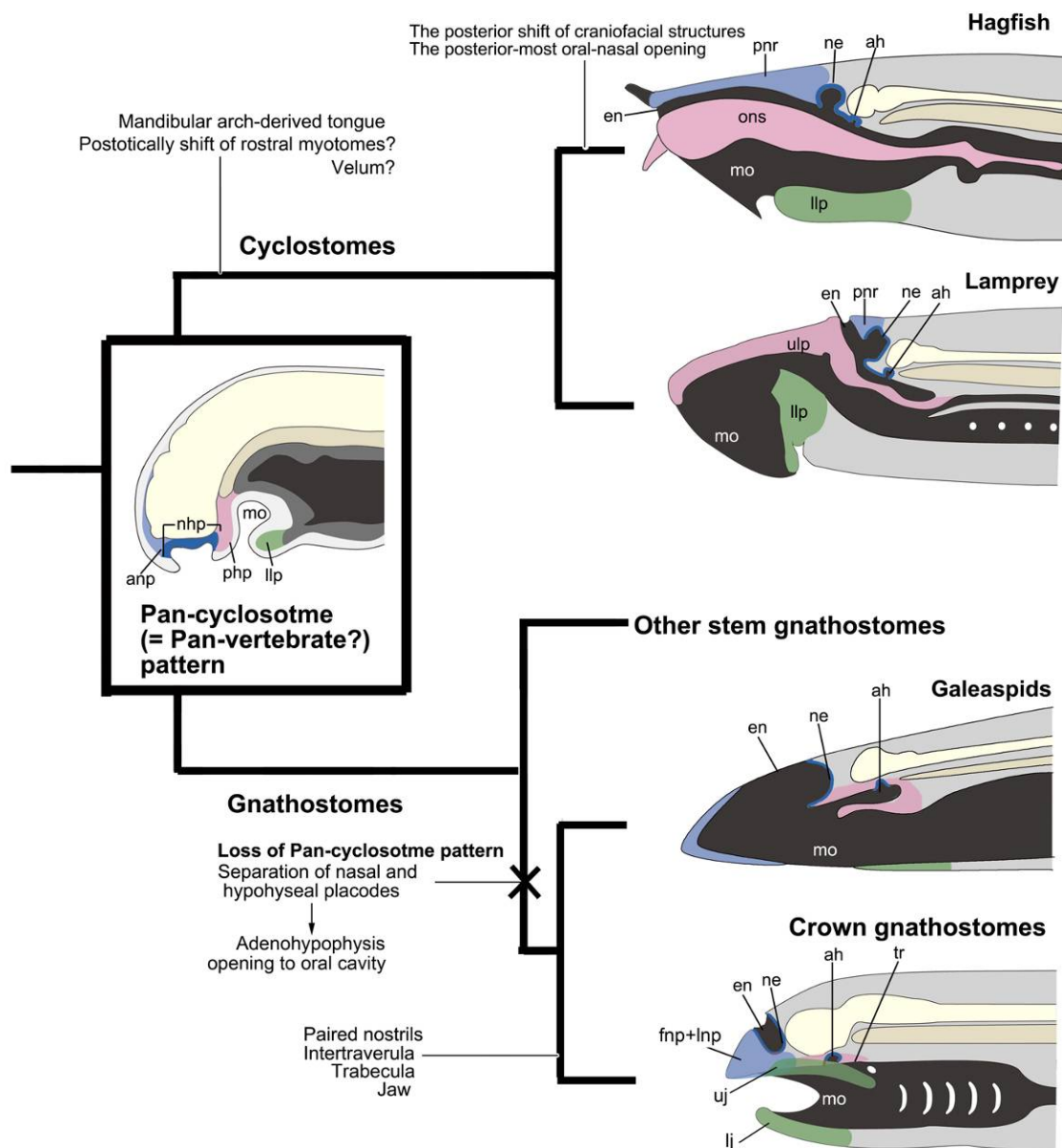


図 26. 脊椎動物の頭部形態の進化

円口類に共有されたパターンが祖先的なものであるという仮説に基づいてモデルを作成した。ヌタウナギとヤツメウナギは、嗅上皮原基である鼻プラコードと腺性下垂体原基である下垂体プラコードが連続した鼻下垂体板 (nhp) を形成する。また口腔と鼻腔を分離するヌタウナギの鼻咽頭隔壁とヤツメウナギの上唇は、後下垂体突起 (php) に由来する相同な構造である。ガレアスピスの分離した嗅上皮と腺性下垂体は、NHP の分離により形成された可能性がある。さらに梁軟骨 (tr) と上顎と下顎の獲得により、冠顎口類の完全に分離した対の鼻孔に関与した可能性がある。

ah, 腺性下垂体 (adenohypophysis) ; anp, 前鼻突起 (anterior nasal process) ; en, 鼻孔 (external nostril) ; fnp+lnp, 前頭鼻隆起+外側鼻隆起 (front nasal prominence and lateral nasal prominence) ; lj, 下顎 (lower jaw) ; llp, 下唇 (lower lip) ; mo, 口 (mouth) ;

ne, 嗅上皮 (nasal epithelium) ; nhp, 鼻下垂体板 (nasohypophyseal plate) ; ons, 鼻口腔隔壁 (oronasohypophyseal shelf) ; php, 後下垂体突起 (post-hypophyseal process) ; pnr, 前鼻領域 (prenasal region) ; tr, 梁軟骨 (trabecula) ; ulp, 上唇 (upper lip) .