



脊椎動物内耳の進化発生学的研究—円口類を中心に—

樋口, 真之輔

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Date of Publication)

2020-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7447号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007447>

※ 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。



(別紙様式 3)

論文内容の要旨

氏 名 樋口 真之輔

専 攻 生物学専攻

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

脊椎動物内耳の進化発生学的研究

—円口類を中心に—

指導教員 倉谷 滋

脊椎動物のうち顎をもつグループ(有顎脊椎動物,あるいは顎口類)の内耳は、前後2つの半規管と1つの外側半規管をもつ(三半規管)。顎をもたない顎口類のステムグループ、甲皮類(ostracoderms)は外側半規管を欠き、現生の無顎脊椎動物、すなわち円口類に属するヤツメウナギも一般には二半規管であるとされる。そして、円口類のもうひとつの系統であるヌタウナギは単一トラス状の半規管をもち、これが脊椎動物内耳の原始的な形質状態であると長らく考えられてきた。換言すれば、脊椎動物の内耳にみられる半規管の数は、1つから2つ、そして3つと段階的に成立したと想像されていたのである。しかし、近年の分子系統学および発生学的な解析により、円口類が単系統群であることが明らかとなった(対して、化石無顎類の多くは、顎口類のステムグループに相当する)。したがって、ヌタウナギの半規管は必ずしも祖先的な形質状態とは見なせなくなり、同時に半規管の進化シナリオも不明となった。

本研究では、脊椎動物の内耳の進化過程を明らかにするため、円口類の単系統性に基づき脊椎動物における内耳の進化について発生学的探索を行った。まず、ヤツメウナギ *Lethenteron camtschaticum* とヌタウナギ *Eptatretus burgeri* の内耳について、その原基である耳胞におけるパターンング関連遺伝子の発現、および耳胞から半規管が形成される過程を観察した。さらに、耳胞における *Otx* 遺伝子の新規発現によって獲得されたとこれまで考えられてきた外側半規管と、そこに分布する感覚斑、外側膨大部稜の進化についても検討した。

はじめに、内耳原基である耳胞の基本的なパターンングを比較するために、耳胞の前後軸、背腹軸を決定する遺伝子発現を観察した。顎口類の耳胞において前後軸、背腹軸を決定する遺伝子の相同遺伝子をヤツメウナギとヌタウナギで単離し、耳胞での発現を観察した。すると、これらのパターンング遺伝子は円口類でも同様の発現を示したので、遺伝子発現が規定する耳胞の極性はすべての脊椎動物で共通であることが分かった。すると、共通の遺伝子発現パターンをもった耳胞から、どのようにして異なる形態の内耳が生じるかが問題となる。これを解決するためには、耳胞から半規管が形成される過程の形態学的なパターンをヤツメウナギ、ヌタウナギと顎口類で比較する必要がある。

つづいて、これまで長いあいだ二半規管であるとされてきたヤツメウナギ成体の内耳を改めて詳細に観察した。すると、ヤツメウナギの内耳もヌタウナギ同様に半規管とみるべきであると分かった。なぜなら、ヤツメウナギにのみ存在する「絨毛域」を取り除いて半規管のみに着目すると、単一トラス状だとみなせるからである。なお、これまで二半規管だとされてきたのは、ヤツメウナギの内耳が複数方向の回転を感知する機能をもつからであるが、単一の半規管を折り曲げることでこれを達成しているのである。そのうえ、顎口類では

樋口 真之輔: No. 2

前後2つの半規管をつくる孔が common crus で隔てられているのに対し、円口類ヌタウナギ、ヤツメウナギには相当する構造を欠くので、やはり円口類の内耳は形態学的には一半規管だといえる。

ところが、ヌタウナギとヤツメウナギにおける内耳の発生過程を観察したところ、両者とも成体では単一トラス状の半規管をもつにも関わらず、ヌタウナギは直接1つのみ孔を形成するのに対し、ヤツメウナギは一時的に2つの孔を形成して、これらが癒合するという発生過程を経ている。

以上の発生パターンと、脊椎動物の系統関係に基づくと、脊椎動物の最終共通祖先は、耳胞に2つの孔を形成する発生プログラムをもっていたと考えられた。ゆえに、1つだけ孔が生じる発生過程は、ヌタウナギ類に派生的な形質であると推定できた。

次に、外側半規管の進化について検討した。具体的には、顎口類における外側半規管の獲得を、耳胞における *Otx* 遺伝子の新規発現によって単純に説明できるかを検証するため、ヤツメウナギとヌタウナギで *Otx1* の相同遺伝子 *OtxA* をそれぞれ単離して耳胞での発現を観察した。円口類は外側半規管をもたないので、耳胞には *OtxA* が発現しないと予想された。が、実際には、*OtxA* はヤツメウナギとヌタウナギの耳胞の腹側に発現し、*Otx* 遺伝子の発現のみで外側半規管の獲得を単純に説明できなくなった。

そこで、先行研究において外側膨大部稜と相同であると示唆された、ヤツメウナギ成体の dorsal macula の発生過程を観察した。ヤツメウナギの dorsal macula はその名の通り内耳の背側に存在し、外側膨大部稜とは形態学的位置関係が大きく異なるため、発生過程こそが相同性を検討するための手がかりとなる。実際には予想通り、dorsal macula は外側膨大部稜と同じ形態学的位置関係を示すタイミングがあり、神経の分岐パターンも一致していた。ヌタウナギ胚でも同様に観察を行ったところ、dorsal macula や外側膨大部稜と一致する形態学的パターンをもつ感覚斑を新たに見出した。すなわち、円口類は外側半規管をもたないが、外側膨大部稜に相同な感覚斑をもつのである。

以上から、脊椎動物の内耳は、これまで考えられてきたよりも複雑な形態進化の歴史を辿って成立したことが分かり、内耳進化の新しいシナリオを提示した。脊椎動物にみられる半規管の数は1つから2つ、そして3つと単純に増加したのではなく、脊椎動物の最終共通祖先の段階で2つの半規管を作りうる発生プログラムと、3つの半規管に対応する感覚斑を備えた複雑な内耳をもっていたと推定できた。顎口類では、これらを転用して3つの半規管と3つの膨大部稜をもつ内耳を作りあげたと考えられた。

氏名	樋口 真之輔		
論文題目	脊椎動物内耳の進化発生学的研究 —円口類を中心に—		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	倉谷 滋
	副査	教授	林 茂生
	副査	准教授	影山 裕二
	副査		
	副査		印

要 旨

脊椎動物のうち顎をもつグループ(有顎脊椎動物、あるいは顎口類)の内耳は、前後2つの半規管と1つの外側半規管をもつ(三半規管)。顎をもたない顎口類のステムグループ、甲皮類(ostracoderms)は外側半規管を欠き、現生の無顎脊椎動物、すなわち円口類に属するヤツメウナギも一般には二半規管であるとされる。そして、円口類のもうひとつの系統であるヌタウナギは単一トラス状の半規管をもち、これが脊椎動物内耳の原始的な形質状態であると長らく考えられてきた。しかし、近年の分子系統学のおよび発生学的な解析により、円口類が単系統群であることが明らかとなった(対して、化石無顎類の多くは、顎口類のステムグループに相当する)。したがって、ヌタウナギの半規管は必ずしも原始的な形質状態とは見なせなくなり、同時に半規管の進化シナリオも不明となっていた。本論文は、脊椎動物における内耳の初期進化に関する定説を覆し、脊椎動物の分子系統樹と整合的なシナリオを提示しようとする、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「結論」から構成されている。

第一章では、脊椎動物における内耳の形態と発生、および円口類ヌタウナギ、ヤツメウナギの系統関係に関するこれまでの知見を整理し、半規管が必ずしも原始的な形質状態ではないことを指摘している。そのうえで、脊椎動物における発生プログラムの変遷を復元し、内耳の進化シナリオを推定するという本研究の目的を提示している。

第二章では、実験に用いた動物胚の入手法および固定法を記述している。また、内耳の発生プログラムを解析するための組織学的手法、コンピュータによる立体構築法、遺伝子発現の解析法を記述している。

第三章ではまず、ヌタウナギとヤツメウナギの耳胞におけるパターンニング遺伝子の発現を観察し、基本的な遺伝子発現は顎口類と共通であることを示した。次に、ヤツメウナギ成体の内耳を改めて詳細に観察し、ヤツメウナギは二半規管ではなく、半規管の内耳をもつと指摘した。さらに、円口類の内耳の発生パターンに着目し、ヤツメウナギには顎口類に類似した2つの孔が耳胞に生じる一方、ヌタウナギでは直接1つのみ孔を生じる発生過程を記載した。また、顎口類において外側半規管を形成するのに必須であるとされてきた *Otx* 相同遺伝子が円口類にも発現することを示した。最後に、内耳神経の分岐パターンを観察し、円口類の dorsal macula と顎口類の外側膨大部稜を含む形態学的パターンが一致することを示唆した。

第四章では、本研究で得られた結果を総合し、脊椎動物の最終共通祖先の段階で2つの半規管を作りうる発生プログラムがあり、他方、耳胞に1つのみ孔を生じるヌタウナギの状態は派生的であると推測している。また、顎口類の外側半規管は *Otx* 遺伝子の新規発現獲得ではなく、その下流にある発生プログラムの変化により獲得され、その際、祖先動物がすでにもっていた外側膨大部稜が転用されたと考察している。さらに、甲皮類の内耳との比較から、前後2つの半規管を隔てる common crus は顎口類の内耳を特徴づける構造であると指摘している。

第五章では、以上の研究をまとめ、顎口類と円口類の共通祖先が2半規管を作りうる発生的プログラムと3つの膨大部稜に相当する感覚斑を備えた、従来考えられてきたよりも複雑な形態の内耳を有していたと考え、脊椎動物における内耳の進化のシナリオを推定している。

以上のように本研究は、円口類を中心に、脊椎動物における内耳の進化シナリオを比較発生学的に探求したものであり、内耳の初期進化に関する従来の定説を覆し、脊椎動物の分子系統樹と整合的なシナリオを初めて提示しえた価値ある業績と認める。この理由で、学位申請者の樋口真之輔は、博士(理学)の学位を得る資格があると認める。