

円口類ヤツメウナギ胚の中胚葉形成観察と脊椎動物頭部の進化的起源

研究代表者：尾内 隆行（形態機能医科学部門・助教）
共同研究者：飯野 哲（形態機能医科学部門・教授）

概 要	
脊椎動物はその明瞭な頭部をしてその存在が認識される動物群である。これまでその頭部の進化に関して二つの仮説が存在している。分節論者は頭部、特に耳よりも前に中胚葉性の分節構造を認め、そのような構造が祖先である無脊椎脊索動物、現存するナメクジウオにも似た前方体節に由来するとみる。一方で反分節論者は、頭部にそのような分節構造を認めない。顎口類の研究から頭部には頭腔と呼ばれる腔とそれを囲む上皮性細胞がみられ、分節論者はこの証拠を持って脊椎動物の頭部の分節を説いた。しかし無顎類であるヤツメウナギの研究が不足しているため結論は出ずにいた。本研究ではヤツメウナギ胚の発生過程を調べ頭部に体節要素の有無を調べた。	
関連キーワード	頭部分節、円口類、中胚葉、形態進化

研究の背景および目的

脊椎動物の進化は明瞭な頭部によって語られる。頭部は、頭蓋、脳、脳神経、頭部骨格筋、特殊感覚器などが独自の解剖学的連関を形成することにより規定される。

これまで脊椎動物の頭部の進化に関して多くの研究がなされてきた。ゲーテ(1790)は椎骨仮説の中で、頭蓋を椎骨の変容とし、頭部とは体幹由来の存在だと言った。バルフォア(1877)はサメ胚を調べ、頭部中胚葉に三対の腔を見つけ(顎前、顎骨、舌骨中胚葉)ゲーテの思想を継承した。19世紀のヨーロッパにおいて、脊椎動物の理想化が起こりサメこそが原型であると考えられた。このようなバイアスの中、ヤツメウナギ胚の観察が行われた。無論ヤツメウナギの頭部中胚葉もサメの理論に当てはめるように理解され、頭部に分節構造を求めた。コルツフによればヤツメウナギには11の頭部分節が存在し、体節、脳神経、鰓裂、鰓弓、脳が分節単位を構成すると考えられた(1902)。顎口類で最も古くに分岐したサメと円口類ヤツメウナギに分節が見つかったことで頭部分節理論は集大成を迎えたように見えた。しかしヤツメウナギ胚は卵黄が多いことから組織切片の作成

が非常に難しいことが知られ、当時の固定方では、組織の歪みがひどいことも指摘され

図1 脊索動物の頭部中胚葉

ていた。このことは、ヤツメウナギ胚で観察された頭部の腔の存在に疑問を与えた。そこで我々は、組織にブレードでのダメージを与えず、レーザーで組織観察を可能にする共焦点レーザー顕微鏡を用い、再度、頭部の発生を観察することにした。

研究の内容および成果

ヤツメウナギの頭部形成を観察するために、原腸胚期、神経胚期、咽頭胚期の胚を固定し、CM-DiIにより細胞膜と核を染色した後、レーザー顕微鏡で胚を観察した。原腸胚において、中胚葉の予定細胞は、原口周辺に存在する。これらの細胞が陥入するとともに、原腸を形成する。原腸は主として内胚

葉からなり、その背側の屋根の部分から頭部中胚葉が分化する。神経胚期に入ると頭部中胚葉は大まかに前と後ろに分けることができる。前中胚葉からは、頭部中胚葉が、後中胚葉からは体幹部中胚葉が分化するが、明瞭なランドマークがないため、これらの境界線は規定できない。神経胚後期にな

ると体節が形態的に自明となる。その前には傍軸頭部中胚葉が形成され、mandibular, hyoid mesoderm が領域化される。しかしこれらの中胚葉は第一咽頭嚢によってその違いが明らかになるため、この段階では区別ができない。やや後の時期になると咽頭嚢が形成され、mandibular, hyoid mesoderm が形態的に自明となる。これらの時期においてコルゾフが報告した腔は全くみられなかった。したがって円口類における腔の存在は否定され、頭部分節理論の根幹が揺れることになった。

図3 体節関連遺伝子の発現解析

これらのことからヤツメウナギの頭部中胚葉には体節が存在しないということが示唆された。このことから脊椎動物の頭部は分節構造を持たない、全く新しいものであることがわかった。

図2 ヤツメウナギの頭部形成

次に体節形成に関わる遺伝子群がヤツメウナギの頭部中胚葉で転写されているのか調べた。Notch経路はこれまで体節の形成に欠かせない因子であることがわかっている。Delta, mesp, fringe はNotch 関連遺伝子である。ヤツメウナギ胚において、これらの遺伝子の発現解析を行ったところほとんど頭部中胚葉に発現していなかった。

図4 脊椎動物頭部中胚葉の進化シナリオ

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

Onai T., Adachi N, Kuratani S. Metamerism in cephalochordates and the problem of the vertebrate head. *Int. Journal. Dev. Biol.* 61:621-632. doi: 10.1387/ijdb.170121to (2017)

Onai T. The evolutionary origin of chordate segmentation: Revisiting the enterocoel theory. *Theory in Biosciences*. <https://doi.org/10.1007/s12064-018-0260-y> (2018)

Onai T. Canonical Wnt/ β -catenin signaling regulates animal/vegetal axial patterning in the cephalochordate amphioxus. *Evolution and development* <https://doi.org/10.1111/ede.12273> (2018)

Onai T., Sugahara F, Adachi N. Mesoderm formation

in lampreys and the evolution of the vertebrate head (in prep).

Onai T., Yu JK, Su YH. Ancient origin of the chordate segmented mesoderm. (in prep)

尾内 隆行 脊柱の発生 *Clinical neuroscience* 中外医学社 in press (2019)

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

助成組織・助成制度・種目・期間・研究課題・代表/分担・採否・採択金額など

武田医学研究助成：基礎医学分野：2018-2020：円口類胚を用いた脊椎動物頭部骨格筋の進化的起源の解明：代表：200万円