

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08130

研究課題名(和文) 頸部およびそれに関わる解剖学的諸構造の比較、実験発生学的解析

研究課題名(英文) Comparative and experimental embryological analysis to understand anatomical construction of the vertebrate neck

研究代表者

長島 寛 (Nagashima, Hiroshi)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：40435665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：前肢にはでき方の異なる2種類の骨がある。一つ目は骨化の途中で軟骨段階を経るもの(軟骨性骨化)で、前肢の大部分の骨が含まれる。もう一方は軟骨段階を経ないもの(皮骨)で、ヒトでは鎖骨がこれに相当する。魚では、胸びれがヒトの腕に相当し、その骨格は大部分が軟骨性骨化で作られ、それらが鎖骨などの皮骨を介して頭の骨につながっている。ヒトでは頸(くび)が長く、前肢は頭につながっていない。進化の過程で頸が長くなった機構を調べるため、頸の長いニワトリの赤ちゃんを見ると、頸全体に鎖骨があって、前肢が鎖骨を介して頭につながっており、魚と基本的に同じ形だった。よって頸は鎖骨を伸ばして長くなったのである。

研究成果の概要(英文)：The skeleton of pectoral appendage is comprised of endochondral and dermal bones. The former develops via ossification of cartilaginous mold, and includes the majority of the appendage skeleton. The latter develops by the ossification of connective tissue and does not require the cartilaginous mold, and includes the clavicle in human. In fishes also, the majority of the pectoral fin skeletons develops through the endochondral ossification and they are connected to the skull via dermal bones including the clavicle. In human, the pectoral limb skeleton is separated from the head with neck region. To elucidate the evolutionary mechanism of the neck elongation, chicken development was observed. In early embryos, the forelimb was connected with head via the clavicle as that in fishes. The result indicated that the long neck had been obtained by elongating the clavicle.

研究分野：比較・実験発生学

キーワード：実験発生学

## 1. 研究開始当初の背景

脊椎動物は進化の過程で頸部が長くなってきた。たとえば頸部の椎骨の数は、両生類で1個、大部分の哺乳類で7つ、ニワトリで14個、エラスモサウルスでは79個である。しかしどのようにして頸部が長くなってきたのか、その機構は不明であった。

頸は頭と前肢の間の領域で、前肢の骨格には2種類、発生途中に軟骨過程を経る軟骨性骨格と、真皮中に骨としてでき軟骨過程を経ない皮骨性骨格があるが、四肢の骨は大部分が軟骨性骨格で、ニワトリやヒトの皮骨性骨格は鎖骨だけである。Chevallier (1977)によれば、前肢の骨格の大部分は、頭部から尾側に離れた(10番体節から尾側)胴体の側板中胚葉から作られ、頭部と前肢の骨格予定域に挟まれた領域が将来の頸部になると推察された。ここで頸部の進化について二つの可能性が考えられた。

一つ目は、魚タイプの祖先動物では頸がなかったと考えられるので、その胚では前肢すなわち胸鰭が頭部に隣り合った部分からできていたはずである。そして進化の過程で、前肢を作る部分が頭部から外れて尾側へ移動して頸部ができ、その後前足を作る部分が、さらに尾側へと位置を変えて徐々に頸が長くなってきたというものである。二つ目は「頸の領域」というものが、頭と前足の間に新たに挿入されたという可能性である。

また、脊椎動物の体は頭部と胴体に分けられ、それぞれ発生機構が異なるが、頸部ではこれらが混ざり合った複雑な様相を呈する。例えば、頸部は形態的に二つの筋で特徴付けられる。一つ目は鰓下筋群で、ヒトでは舌筋群、舌骨下筋群が含まれる。二つ目は僧帽筋群で、ヒトでは胸鎖乳突筋と僧帽筋が含まれる。これらの筋は頸部の長さに関わらず、様々な脊椎動物で見られるのだが (McGonnell, 2001; Ericsson et al., 2013) 発生的観点からは大変ユニークな特徴を示している。

一般的に筋は頭部の筋と胴体の筋に分けることができる。例えば、頭部の筋は傍軸中胚葉と側板中胚葉、両方から作られるが、胴体の筋になれるのは傍軸中胚葉である体節だけである。また筋分化に関わる遺伝子も頭部と胴体で異なる。さらに、筋を包む結合組織は、頭部では神経堤細胞、胴体では中胚葉に由来する。神経支配では、頭部の鰓弓筋は背根から出る鰓弓神経、胴体の筋は腹根から出る脊髄神経によって支配される。

鰓下筋の筋線維は、傍軸中胚葉である体節に由来するからこれは胴体の特徴であるが、その筋膜は頭部の神経堤細胞からでき、これは頭部の特徴である (Matsuoka et al., 2005)。一方、僧帽筋群は頭部筋の特徴を多く示すが、一部の筋線維が体節から作られ (Theis et al., 2010)、支配神経でのマーカー分子の発現強度などで胴体の筋の特徴をいくつか示す (Kobayashi ら, 2013)。このよう

に、鰓下筋群と僧帽筋群は頭部と胴体の二つの特徴を併せ持っている。

このような頸に見られる進化的に保存された形態パターンと頭部/胴体の二重性がどのようにして作られるのか、その原因はまだ分かっていなかった。

## 2. 研究の目的

以下の3つの問題を解明する。

- (1)頸部がどのようにして長くなったのか？
- (2)頸部の進化的に保存された形態パターンの原因は？
- (3)頸部に見られる頭部/胴体二重性の原因は？

## 3. 研究の方法

頸の長いニワトリで頸部が作られる様子を確認するため、胚の頭部と前肢芽の間にある側板中胚葉の発生運命を調べた。具体的には、ニワトリ胚の側板中胚葉をウズラ胚のものへ交換移植し、移植されたウズラの側板中胚葉に由来する細胞の分布を調べた。

また最も頭側の側板中胚葉の性質を確かめるため、ニワトリ胚のそれをウズラ胚の頭部中胚葉へ交換移植し、その後の発生運命を調べた。

## 4. 研究成果

頭部と前肢芽の間にある胴体の側板中胚葉全体から鎖骨ができた。頭側の側板中胚葉ほど腹側、胸骨側の鎖骨部分が、尾側の側板中胚葉ほど背側、肩峰側の鎖骨部分ができた。Chevallier (1977)の結果と異なっているが、これはChevallierが頭側の側板中胚葉を調べていなかったためである。よって、胚においては頭部と前肢芽の間の「胚の頸部」が鎖骨予定域に一致するのだ。重要なことは、ニワトリのように頸が長い動物でも、鎖骨領域が頭部にくっついていたことである。

咽頭胚期のニワトリ胚では、頭部腹側に分節状に並んだ咽頭弓の動脈(動脈弓)があり、その尾側と腹側を舌下神経が取り囲むように走っている。胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分に由来する細胞は、咽頭胚期には舌下神経に沿うように分布していた。したがって、もしニワトリの頸部がとても短かったら、その鎖骨全体はこれらの細胞から舌下神経に沿って作られるはずである。この形態はメダカと同じである。すなわち孵化直後のメダカを見ても、頭部腹側に分節状に鰓弓骨格が並び、その尾側、腹側を舌下神経が取り囲んでいる。メダカの皮骨肩帯は舌下神経に沿うように作られ、その尾側に軟骨性の胸鰭骨格が付いているのである。したがって、一見、頸のないように見えるメダカも頸の長いニワトリも基本的には同じ形態パターンを持っているが、ニワトリでは鎖骨部分を引き伸ばして長い頸部を作っていることが分かった。

ここで問題は、なぜ鎖骨領域が頭部から

離れられないのかということである。それを考えるには頭部-胴体の接続領域である胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分に着目する必要がある。

Theis ら(2010)は、僧帽筋の筋繊維の大部分が胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分に由来し、その発生に伴う遺伝子発現パターンが頭部筋タイプであり、更に、もっと尾側にある胴体の側板中胚葉では置き換えができないことを示した。この結果は、僧帽筋が頭部筋に近い性質を持っていることを示している。そこで、ニワトリの胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分をウズラの頭部中胚葉で置き換えて見たところ、ウズラ細胞から僧帽筋と鎖骨の腹側、胸骨端ができた。したがって胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分は、胴体の中胚葉である体節に隣接しているものの、頭部中胚葉に近い性質を持っていると考えられ、そのような細胞が寄与する鎖骨もまた、頸部の筋と同様に頭部と胴体の二重性を持っていると考えられた。

上記のように胴体の側板中胚葉のうち最も頭側の部分は咽頭弓の後縁に沿って分布する。この領域は頭部神経堤細胞の分布域の後縁でもあり、circumpharyngeal region (CP region)と呼ばれている(Kuratani, 1997)。これまで見てきたように、CP regionにある側板中胚葉からは僧帽筋や鎖骨の腹側端の他、一部の心筋もできる(Lescroart et al. 2015)。CP regionの背側に隣接する体節からは筋芽細胞ができて、舌下神経に沿ってCP regionの中を移動し、鰓下筋群を作る。これらの体節は後頭骨も作り、それは僧帽筋の付着部となる。また、これらの構造はCP region=頭部神経堤細胞の分布域で作られるので、頭部神経堤細胞がこれらの構造の結合組織となる。したがって、頸領域の筋と骨格の結合は、すでにCP regionの中で出来上がっているのである。そしてこの領域はまさしく頭部と胴体の境界領域であって、これが、頸に見られる頭部/胴体の二重性の原因であると考えられる。

そしてこれら多くの構造が、この狭い領域で作られるので、これらの発生には多くの相互依存的な誘導関係ができ、それが複雑すぎるために進化の過程で変更できなくなってしまった結果、どの動物でも頸に同じ形態パターンが現れ、鎖骨が頭部から離れられなくなってしまったと考えられる。

ところで、四肢の進化的起源に関しては19世紀から続く二つの古典的な仮説がある。Gegenbaur (1876, 1878)は四肢を頭部の構造と捉え、それが鰓骨格から進化したと考えた。一方、Balfour (1881)やGoodrich (1906, 1930)は四肢を胴体の構造と捉え、祖先的動物の脇腹には一對の鰭があって、それが頭側と尾側に別れて四肢が進化したと考えた。

すでに見てきたように、鎖骨は頭部と胴体の境界にできる構造で、胚では、頸の長さに関わらず前肢が鎖骨を介して頭部につな

がっているのである。これは、前肢の相対的位置が胴体の中で固定していることを示している。つまり、四肢は体側鰭由来説が主張するように胴体のどこにでもできる構造ではないのである。これは前肢の位置がHoxc6の発現によって決まっているとする現代発生学の知見(Burke, 2000)とも一致する。本研究での新しさは、前肢の位置を分子の言葉だけではなく、解剖用語で表現することができるようになったことである。

以上から、

- (1) 頸は鎖骨領域
- (2) 頸が長くなるという現象は、鎖骨領域が長くなることによって作られた。
- (3) 頸部の筋、鎖骨は頭部/胴体の境界(CP region)で作られる。これが頸部の進化的に保存された形態パターンと頭部/胴体二重性の原因である。

なお、以上の結果は下記の雑誌論文にまとめ、*Journal of Anatomy Best Paper Prize 2016*を受賞した。

<引用文献>

Balfour FM (1881) On the development of the skeleton of the paired fins of Elasmobranchii, considered in relation to its bearings on the nature of the limbs of the Vertebrata. *Proc Zool Soc London* **1881**, 656–671.

Burke AC (2000) *Hox* genes and the global patterning of the somitic mesoderm. *Curr Top Dev Biol* **47**, 155–181.

Chevallier PA (1977) Origine des ceintures scapulaires et pelviennes chez l'embryon d'oiseau. *J Embryol Exp Morphol* **42**, 275–292.

Ericsson R, Knight R, Johanson Z (2013) Evolution and development of the vertebrate neck. *J Anat* **222**, 67–78.

Gegenbaur C (1876) Zur morphologie der gliedmassen der wirbelthiere. *Morph Jahrb* **2**, 396–420.

Gegenbaur C (1878) *Elements of Comparative Anatomy*. London: MacMillan.

Goodrich ES (1906) Notes on the development, structure and origin of median and paired fins of fish. *Q J Microsc Sci* **50**, 24–376.

Goodrich ES (1930) *Studies on the Structure and Development of Vertebrates*. London: MacMillan.

Kobayashi N, Homma S, Okada T, et al. (2013) Elucidation of target muscle and detailed development of dorsal motor neurons in chick embryo spinal cord. *J Comp Neurol* **521**, 2987–3002.

Kuratani S (1997) Spatial distribution of postotic crest cells defines the head/trunk interface of the vertebrate body: embryological interpretation of peripheral nerve morphology and evolution of the vertebrate head. *Anat Embryol* **195**, 1–13.

Lescroart F, Hamou W, Francou A, et al. (2015) Clonal analysis reveals a common origin between nonsomite-derived neck muscles and heart myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 1446–1451.

Matsuoka T, Ahlberg PE, Kessaris N, et al. (2005) Neural crest origins of the neck and shoulder. *Nature* **436**, 347–355.

McGonnell IM (2001) The evolution of the pectoral girdle. *J Anat* **199**, 189–194.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hiroshi Nagashima,\* Fumiaki Sugahara, Keisuke Watanabe, Masahiro Shibata, Akina Chiba, and Noboru Sato  
Developmental origin of the clavicle, and its implications for the evolution of the neck and the paired appendages in vertebrates  
*Journal of Anatomy* **229**, 536-548, 2016.  
査読あり  
DOI: 10.1111/joa.12502.

〔学会発表〕(計 5 件)

(1) Hiroshi Nagashima  
“Developmental origin of the chicken clavicle, and its implications for the evolution of the neck and the paired appendages in vertebrates”  
Anatomical society winter meeting 2017  
2017年12月18日  
University of Dundee, UK

(2) 長島 寛, 佐藤 昇  
「進化発生学からみた脊椎動物頸部の構造」  
第123回日本解剖学会総会・全国学術集会  
シンポジウム5, 鰓弓から顔面発生を考える

2018年3月28日  
日本医科大学武蔵境校舎(東京都武蔵野市)

(3) 長島 寛, 佐藤 昇  
「頸部についての比較発生学的研究」  
第122回日本解剖学会総会・全国学術集会  
2017年3月28日  
長崎大学坂本キャンパス(長崎県長崎市)

(4) Hiroshi Nagashima, Fumiaki Sugahara, Keisuke Watanabe, Masahiro Shibata, and Noboru Sato  
“Insight into evolutionary origin of pectoral appendage from the aspect of developmental origin of the clavicle”  
第121回日本解剖学会総会・全国学術集会  
PS1. 会頭企画シンポジウム かたち作りの進化  
2016年3月29日  
ビッグパレットふくしま(福島県郡山市)

(5) Hiroshi Nagashima, Fumiaki Sugahara, Masahiro Shibata, Daisuke Koga, Satoru Kusumi, Akina Chiba, Tatsuo Ushiki, Noboru Sato  
“Evolution of the pectoral fin/limb and the vertebrate neck”.  
第120回日本解剖学会総会・全国学術集会  
2015年3月22日  
神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)  
取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.med.niigata-u.ac.jp/an1/welcome.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
長島 寛 (NAGASHIMA, Hiroshi)  
新潟大学・医歯学系・准教授  
研究者番号: 40435665  
(2) 研究分担者  
なし  
(3) 連携研究者  
なし