

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：12608  
研究種目：基盤研究(B) (一般)  
研究期間：2013～2016  
課題番号：25291086  
研究課題名(和文) 鰭から四肢へー陸棲適応へ向けた形態進化ー

研究課題名(英文) Evolution from fins into limbs

## 研究代表者

田中 幹子 (Tanaka, Mikiko)

東京工業大学・生命理工学研究科・准教授

研究者番号：40376950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、古代魚の鰭が四肢へと進化したプロセスを解明することを目的として研究を行った。その結果、鰭から四肢への過程において、前側領域と後側領域のバランスが大きくシフトして「後側化」すること、この過程には前後軸パターンを制御する Gli3 の発現制御領域の機能の変化が関連することを明らかにした。さらに、サメの鰭を人為的に「後側化」すると、鰭の3本の基骨が1本になることを実証した。神経パターンについては、神経ガイダンス因子のSema3A の発現様式の変化が四肢神経の多様性を生み出すことが示された。筋肉パターンについては、従来報告されていた形式とは異なる形式で、鰭の筋肉が進化したことが示された。

研究成果の概要(英文)：In this project, we aimed to explore the evolutionary process of how fins have evolved into limbs during evolution of vertebrates. Studies of catsharks revealed that there was a shift in the balance of anterior and posterior fields in their fin buds compared to that in mouse limb buds. Furthermore, catshark genome lacked a sequence found in mice and other tetrapods, which is responsible for preventing Gli3 expression in the posterior part of tetrapod limb buds. When we deliberately “posteriorised” pectoral fin buds of catshark, the fins lost anterior skeletal elements, and showed a single bone connected to the pectoral girdle as seen in fossil Tiktaalik pectoral fins. We also explored the developmental mechanisms behind the alteration of the neuronal framework during morphological diversification of limbs and found that Sema3A-dependent guidance system plays a key role in this process.

研究分野：進化発生学

キーワード：進化発生 形態進化

### 1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の進化史の中で、水中生活を行っていた古代脊椎動物が陸上へと進出した際に起こった形態進化のうち、最も重要な変化の一つに對鰭を四肢へと進化させたことがあげられる。現生の水棲脊椎動物の中では、最も原始的な對鰭の形態的特徴を持つ軟骨魚類のうち、サメの胸鰭骨格をマウスの四肢骨格と比較すると、骨格形態でも、前鰭骨と中鰭骨の退化や指骨の獲得など、大きな変化を伴う。さらに、歩行を可能にするためには、四肢筋や神経のパターンの大幅な変化が必要となる。一方で、對鰭や四肢の原基の発生過程で骨格、筋肉、及び、神経のパターン形成を制御している形態形成遺伝子群は広く保存されていることがわかっており、これらの発現をどう変化させることが對鰭から四肢への形態進化をもたらしたのかを理解することは、これから解決すべき問題として残されていた。

### 2. 研究の目的

本研究では、海で生活していた古代脊椎動物の一部が陸にあがった際に、その對鰭を四肢へと劇的に進化させたプロセスを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

各種魚類胚と各種四肢動物胚を用いて、對鰭原基と肢芽の発生過程を比較した。その手段として、比較発現解析、骨パターン解析、筋パターン解析、神経パターン解析、遺伝子機能解析、比較ゲノム解析、組織学的解析、電子顕微鏡解析、数理モデル解析等を行った。

### 4. 研究成果

(本研究は、研究代表者が基盤研究 B を平成 28 年度に前年度採択をされたため、平成 27 年度が最終年度となった。)

サメの胸鰭骨格と四肢動物の前肢骨格を比較すると、前側鰭骨格が退化している。この原因について、サメ胚の胸鰭原基とニワトリ胚の前肢芽において、前後軸のパターン形

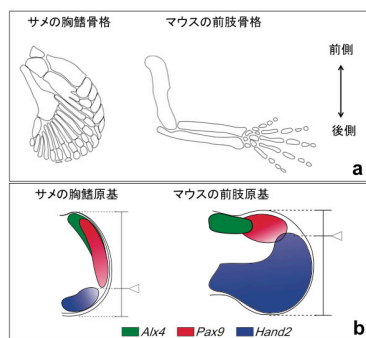


図1 サメの胸鰭とマウスの前肢の比較。

成に関与する遺伝子の発現を比較解析したところ、鰭から四肢への進化の過程では、前側領域と後側領域のバランスが大きくシフトして、「後側化」されることがわかった(図1)。そして、前側領域と後側領域のバランスの変化は、前後軸パターンを制御する *Gli3* の発現制御領域の機能が変化したことによることを明らかとした。さらに、サメの鰭を人為的に「後側化」すると、上陸直前の原始脊椎動物の鰭で見られるように、鰭の3本の基骨が1本になることが実証された(図2; Onimaru et al., 2015 *eLife* (業績6))。

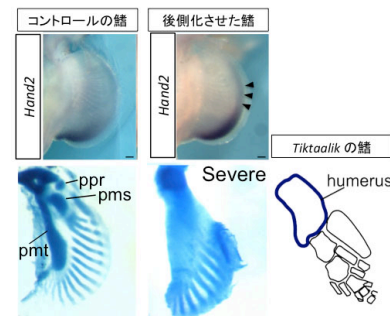


図2 人為的に後側化されたサメの鰭。

さらに、数理生物学者の James Sharpe 氏 (CRG, Spain) との共同研究により、對鰭から四肢への進化のうち、先端部の骨格パターンの変化の一部は Turing pattern のパラメータの変化で説明できることを示した (Onimaru et al., 2016 *Nature Communications* (業績3))。

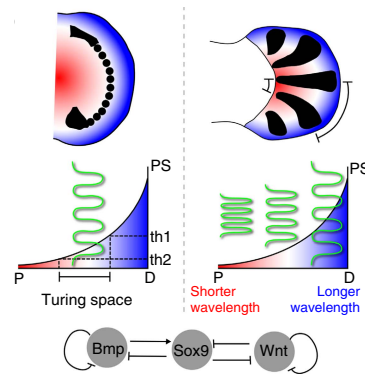


図3 サメの胸鰭とマウスの前肢の Sox9 パターンを制御する Turing pattern (業績2 より抜粋)。

神経パターンについては、神経ガイダンス因子の *Sema3A* が四肢の神経をガイドする様式が、四足動物の共通祖先の段階で確立されたこと、*Sema3A* の発現様式の変化が四肢の神経の多様性を生じさせる要因となったことを示す結果を得た (Noguchi et al., in press *Dev. Growth Differ.* (業績2))

また、筋肉パターンについては、サメ胚の胸鰭を題材に複数の筋形成マーカーを用いた解析と電子顕微鏡解析を行った結果、従来報告されていた仮説とは異なるプロセスを

経て、対鰭の筋肉が進化したという結果を得た (Okamoto et al. under revision)。

このように、本研究課題では、骨パターン、神経パターン、筋肉パターンの進化について、研究計画をほぼ達成し、重要な成果を得ることができた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 18 件)

1. Mikiko Tanaka (2017). Evolution of vertebrate limb development (version 2.0) *Essential for Life Sciences* in press

2. Kanami Noguchi, Ryota Ishikawa, Kanako Miyoshi, Masahumi Kawaguchi, Takahiko Kawasaki, Tatsumi Hirata, Makiko Fukui, Shigeru Kuratani, Mikiko Tanaka and Yasunori Murakami (2017). Expression patterns of *Sema3A* in developing amniote limbs: with reference to the diversification of peripheral nerve innervation. *Dev. Growth Differ.* in press doi: 10.1111/dgd.12364.

3. Koh Onimaru, Luciano Marcon, Marco Musy, Mikiko Tanaka, James Sharpe (2016). The fin to limb transition as the re-organisation of a Turing pattern. *Nature Communications* 7, Article number:11582, DOI: 10.1038/ncomms11582.

4. Mikiko Tanaka (2016). Developmental mechanism of limb field specification along the anterior-posterior axis during vertebrate evolution. *J. Dev. Biol.* 4, 18; doi: 10.3390/jdb4020018 (Invited)

5. Mikiko Tanaka (2016). Fins into limbs: autopod acquisition and anterior elements reduction by modifying gene networks involving 5'Hox, Gli3 and Shh. *Dev. Biol.* 413, 1-7.

6. Koh Onimaru, Shigehiro Kuraku, Wataru Takagi, Susumu Hyodo, James Sharpe and Mikiko Tanaka (2015). A shift in anterior-posterior positional information underlies the fin-to-limb evolution. *eLife* 2015; 4: e07048, DOI: 10.7554/eLife.07048

7. Mikiko Tanaka, Reiko Yu, Daisuke Kurokawa (2015). Anterior migration of the lateral plate mesodermal cells during embryogenesis of pufferfish *Takifugu niphobles*: Insight into the rostral positioning of pelvic fins. *J. Anat.* 227, 81-88.

8. Kaneko Hiroki, Yuki Nakatani, Koji Fujimura, Mikiko Tanaka (2014). Development of the lateral plate mesoderm in medaka *Oryzias latipes* and Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Insight

into the diversification of pelvic fin position. *J. Anat.* 225, 659-674.

9. Yuki Sugahara, Masahumi Kawaguchi, Tatsuya Itoyama, Daisuke Kurokawa, Yasuhiko Tosa, Shin-Ichi Kitamura, Itsuki C Handoh, Kei Nakayama, Yasunori Murakami (2014). Pyrene induces a reduction in midbrain size and abnormal swimming behavior in early-hatched pufferfish larvae. *Mar. Pollut Bull.* 85, 479-486.

10. Mikiko Tanaka (2013). Molecular and evolutionary basis of limb field specification and limb initiation. *Dev. Growth Differ.* 55, 149-163. DOI: 10.1111/dgd.12017 (Invited)

[学会発表] (計 49 件)

1. Koh Onimaru, Shigehiro Kuraku, Wataru Takagi, Susumu Hyodo, James Sharpe, Mikiko Tanaka. Modification of anterior-posterior patterning system underlies the fin-to-limb transition. 13<sup>th</sup> International Limb Development and Regeneration Conference. 2015/6/28-7/1, St Petersburg, USA.

2. Kiyohito Tsukano, Mari Fukagawa, Masahumi Kawaguchi, Shigeru Kuratani, Yasunori Murakami. Involvement of Slit-Robo signaling in the development of the posterior commissure and concomitant swimming behavior in *Xenopus laevis*. The 5<sup>th</sup> meeting of European Society of Evolutionary Developmental Biology. 2014/7/22-25, Viena, Austria.

[図書] (計 6 件)

[その他]

ホームページ等  
東京工業大学 生命理工学院 生命工学系 田中幹子研究室ホームページ  
<http://www.evodevo.bio.titech.ac.jp>

愛媛大学 大学院理工学研究科 環境機能科学専攻 村上安則研究者プロフィール  
<http://kenqweb.office.ehime-u.ac.jp/Profiles/0010/0001344/profile.html>

東京大学大学院理工学研究科附属臨海実験所ホームページ  
<http://www.mmbs.s.u-tokyo.ac.jp>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 幹子 (MIKIKO TANAKA)

東京工業大学・生命理工学研究科・准教授  
研究者番号 : 40376950

(2)研究分担者

村上 安則 (YASUNORI MURAKMI)

愛媛大学・理工学研究科・准教授  
研究者番号：50342861

黒川 大輔 (DAISUKE KUROKAWA)  
東京大学・理工学研究科・助教  
研究者番号：40342779