

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430018

研究課題名(和文)ふたつの脳の進化：哺乳類と竜弓類の終脳発生基盤の起源と変遷

研究課題名(英文)Developmental plan in reptilian telencephalon: with reference to the evolution of two distinct brain centers

研究代表者

村上 安則 (Murakami, Yasunori)

愛媛大学・理工学研究科(理学系)・准教授

研究者番号：50342861

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は哺乳類(単弓類)と爬虫類・鳥類(竜弓類)において異なるタイプの統合中枢が進化した背景にある分子機構を明らかにするため、マウス、ニワトリ、カメ、ヤモリ、ヘビを用いて終脳形成、神経回路形成に関わる遺伝子を単離し発現様式の比較をおこなった。その結果、間脳から終脳へ伸びる神経回路は、その発生や神経ガイド分子の発現様式は哺乳類と爬虫類で類似していたが、終脳形成に関わる遺伝子や終脳内での軸索誘導に関わる遺伝子は、哺乳類と爬虫類では全く異なる様式で発現していることが判明した。また、これらの結果は、単弓類と竜弓類が分岐した後に、それぞれの系統で独自の脳発生機構が進化してきたことを示している。

研究成果の概要(英文)：Since the ancestors of mammals and birds have diverged from their common ancestor (stem amniotes), the brains of animals in each lineage are thought to have developed independently. Thus, to clarify the evolutionary transition of the telencephalon, the highest integrative center in amniotes, we compared the developmental plan in mouse, chicken, turtle, gecko and snake. We studied the expression patterns of transcription factors and axon guidance molecules in primordia of diencephalon and telencephalon, and found that expression of some axon guidance factors in reptiles were similar to those of mouse embryo, suggesting that the basic mechanisms underlying the connection between diencephalon and telencephalon are shared across amniote lineages. Conversely, telencephalon patterning genes are differentially expressed in animals studied. This indicates that changes in the expression domains of pallium-patterning genes are a prerequisite for the diversification of complex brain centers.

研究分野：進化形態学

キーワード：進化 脳 脊椎動物 発生 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物はその進化の過程で多様な脳形態を進化させてきた。特に陸上生活に適応した羊膜類（爬虫類・鳥類・哺乳類）では終脳（大脳）の発達が顕著であり、その脳形態にはふたつの異なる型が見出されている。すなわち、大脳新皮質をもつ哺乳類型（単弓類型）、および背側脳室菱（DVR）を有する竜弓類型（爬虫類・鳥類型）である（図1）。哺乳類の新皮質についてはこれまでに様々な研究がなされてきたが、竜弓類の脳についてはいまだ十分な研究は進んでおらず、特に爬虫類の脳について神経発生学の見地から研究した例はほとんどない状況であった。

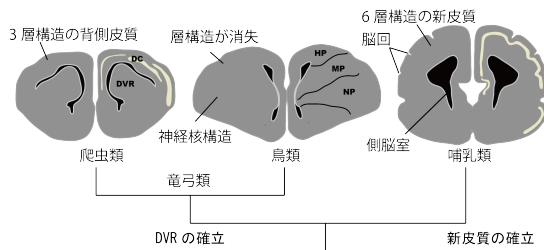


図1、羊膜類の終脳形態の多様性

2. 研究の目的

本研究では「ふたつの脳の進化」をキーワードとし、脳領域形成、神経回路形成に関わる遺伝子の発現と機能に関する解析を進め、哺乳類型脳と竜弓類型脳の類似点と相違点を見出し、終脳の多様化機構その進化を導くための鍵革新となった発生機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

実験には発生期の哺乳類（マウス）と竜弓類（爬虫類のスッポン、ソメワケササクレヤモリ、コーンスネークと鳥類のニワトリ）そして比較解析のためアフリカツメガエル、マナマズ、トラザメ、カワヤツメを用いて、次世代シーケンサーにより発生期の脳に発現する遺伝子を網羅的に探索、単離し、その発現様式の観察を行い、同時に免疫組織化学や神経ラベリング、機能阻害実験によって哺乳類と竜弓類の脳について詳細に解析した。

4. 研究成果

スッポン、ヤモリ、ニワトリにおいて終脳に入力する神経回路の形成機構を調べた結果、神経ガイドに関わる因子の発現様式がマウスで見られるものとは大きく異なる事が判明した（図2：雑誌論文）。また、脳領域の形成に関わる遺伝子のうち、哺乳類の新皮

質の層特異的のマーカ遺伝子のオーソログをヤモリ、カメで観察したところ、哺乳類と爬虫類とはその発現が大きく異なり、さらにカメとヤモリでも異なる事が判明した（雑誌論文、村上ら、投稿準備中）。これらの遺伝子が、哺乳類と竜弓類で異なるタイプの終脳が進化した要因であるらしい（雑誌論文）。さらにこれらふたつの終脳形成機構の進化的起源を探るため、条鰭類や両生類など脊椎動物の様々な系統で神経発生を観察を行い、そこで働く遺伝子の同定を進めた（雑誌論文）。そして脊椎動物の中でも最も初期に分岐した円口類ヤツメウナギ・ヌタウナギについても研究を行い、終脳形成に関わる遺伝子の多くがこれらの動物の終脳に発現していることが判明した（雑誌論文）。このことから、哺乳類と竜弓類のふたつの脳は、およそ5億年前に脊椎動物の共通祖先の段階で確立された終脳発生機構を基盤として、いくつかの遺伝子の発現様式を変えることで多様化を成し遂げたと考えられる。また、形態進化に伴ってどのように神経系が進化するのかを説明できる理論の構築を目指し、四肢を支配する神経をモデルとしてその回路形成機構についても解析を行い、四肢の神経ガイドに関わる遺伝子 Sema3A の発現様式がマウス、ニワトリ、カメ、ヤモリではそれぞれ異なり、それは骨格形成機構とリンクしている可能性が示唆が示唆された（雑誌論文）。すなわち、骨格の形態が変わればそれに付随して神経回路も変わっていく可能性がある。このような神経発生機構の柔軟さが脳の多様性と関係があるかもしれない。

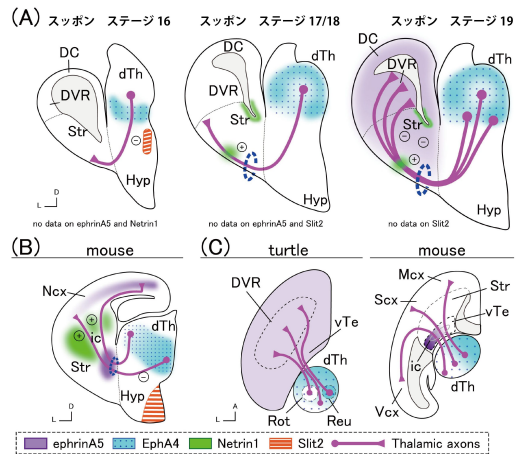


図2、マウスとスッポンの終脳神経回路形成に関わる遺伝子の発現。両方で発現様式が大きく異なる（文献⑦）より抜粋

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- Noguchi K, Ishikawa R, Kawaguchi M,
- Miyoshi K, Kawasaki T, Hirata T, Fukui M,
- Kuratani S, Tanaka M, Murakami Y.

Expression patterns of sema3A in developing amniote limbs: With reference to the diversification of peripheral nerve innervation. *Dev. Growth Diff.* in press.

Itoyama T, Kawara M, Fukui M, Sugahara Y, Kurokawa D, Kawaguchi M, Kitamura SI, Nakayama K, Murakami Y. Nervous system disruption and swimming abnormality in early-hatched pufferfish (Takifugu niphobles) larvae caused by pyrene is independent of aryl hydrocarbon receptors. *Mar Pollut Bull.* (2017). Doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.02.058

Sugahara F, Pascual-Anaya J, Oisi Y, Kuraku S, Aota SI, Adachi N, Takagi W, Hirai T, Sato N, Murakami Y, Kuratani S. Evidence from cyclostomes for complex regionalization of the ancestral vertebrate brain. *Nature* 531, 97-100. (2016).

Nomura T, Ohtaka-Maruyama C, Yamashita W, Wakamatsu Y, Murakami Y, Calegari F, Suzuki K, Gotoh H, Ono K. The evolution of basal progenitors in the developing non-mammalian brain. *Development*. 143(1), 66-74. (2016).

Tosa Y, Tsukano K, Itoyama T, Fukagawa M, Nii Y, Ishikawa R, Suzuki TK, Fukui M, Kawaguchi M, Murakami Y. Involvement of slit-robo signaling in the development of the posterior commissure and concomitant swimming behavior in *Xenopus laevis*. *Zool. Lett.* 1. doi: 10.1186/s40851-015-0029-9, (2015).

Suzuki DG, Murakami Y, Yamazaki Y, Wada H. Expression patterns of Epf gene in the “dual visual development” of the lamprey and their significance in the evolution of vision in vertebrates. *Evol. Dev.* 17(2):134-197. (2015).

Suzuki DG, Murakami Y, Escrivá H, Wada H. A comparative examination of neural circuit and brain patterning between the lamprey and amphioxus reveals the evolutionary origin of the vertebrate visual center. *J. Comp. Neurol.* 523(2):251-61. (2015).

Tosa Y, Hirao A, Matsubara I, Kawaguchi M, Fukui M, Kuratani S and Murakami Y. Development of the thalamo-dorsal ventricular ridge tract in the Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Dev. Growth Diff.* 57, 40-57. (2015).

Sugahara Y, Kawaguchi M, Itoyama T, Kurokawa D, Tosa Y, Kitamura SI, Handoh IC, Nakayama K, Murakami Y. Pyrene induces a reduction in midbrain size and abnormal swimming behavior in early-hatched pufferfish larvae. *Marine pollution bulletin*, 85, 479-86. (2014).

Nomura T, Murakami Y, Goto H, Ono K. Reconstruction of ancestral brains: exploring

the evolutionary process of encephalization in amniotes. *Neurosci. Res.* 86, 25-36. (2014).

〔学会発表〕(計 26 件)

1, 村上安則 円口類の遺伝子から解き明かす脊椎動物の脳の起源と多様化 神経解剖懇話会 (2017年3月27日, 長崎) **招待講演**

2, Murakami Y. Origin and diversification of the vertebrate brain. The 10<sup>th</sup> Annual Meeting for Japanese Developmental Neuroscientists (2017年 3月10日, 仙台) **招待講演**

3, Ishikawa R, Yamakami S, Tosa Y, Koyama H, Kuraku S, Rijli FM, Kuratani S, Murakami Y. Projections of the trigeminal nerve in developing shark and lamprey; with reference to the evolution of trigeminal nerve somatotopy. The 22<sup>nd</sup> International Congress of Zoology (2016年 11月17日, 沖縄)

4, Kawara M, Okumura K, Kusuhara Y, Kuraku S, Sugahara F, Kuratani S, Murakami Y. Expression of region-specific transcription factors in the lamprey pallium; with reference to the evolution of the vertebrate telencephalon. The 22<sup>nd</sup> International Congress of Zoology(2016年 11月17日, 沖縄)

5, 村上安則 脊椎動物の脳の起源と多様化; 円口類と顎口類を用いた進化発生学的研究 日本進化学会第18回大会(2016年8月25日, 東京) **招待講演**

6, Murakami Y. Development of the thalamocortical projection in reptiles. The 8<sup>th</sup> World Congress of Herpetology シンポジウム, 杭州 (2016年 8月17日, 中国, 杭州) **招待講演**

7, Murakami Y. The role of FGF signaling in the developing lamprey pallium. 日本発生学会 シンポジウム 2 Vertebrate brains: structure, function and evolution (2016年 6月5日, 筑波) **招待講演**

- 8, 糸山達哉, 川中寅生, 土佐靖彦, 村上安則. マナズのひげと味蕾の形成における FGFs 及び Shh シグナルの役割 日本動物学会・中国四国支部・愛媛県定例会 (2015 年 11 月, 愛媛)
- 9, 平尾綾子, 土佐靖彦, 川口将史, 村上安則. 鱗竜類の終脳発生機構の解析 日本動物学会・中国四国支部・愛媛県定例会 (2015 年 11 月, 愛媛)
- 10, 河原萌恵, 奥村光祐, 倉谷滋, 村上安則. 円口類と軟骨魚類の終脳発生機構 日本動物学会・中国四国支部・愛媛県定例会 (2015 年 11 月, 愛媛)
- 11, 村上安則 脊椎動物の脳の起源と多様化 自治医科大学セミナー (2015 年 10 月 26 日, 栃木) **招待講演**
- 12, 糸山達哉, 土佐靖彦, 福井眞生子, 高田裕美, 村上安則. ナマズのひげと味蕾の形成には FGFs 及び Shh シグナルが関与する 第 86 回日本動物学会 (2015 年 9 月, 新潟)
- 13, 石川遼太, 山上沙織, 土佐靖彦, 倉谷滋, 村上安則. ヤツメウナギとトラザメの知覚性三叉神経の脳への接続 第 86 回日本動物学会 (2015 年 9 月, 新潟)
- 14, 平尾綾子, 土佐靖彦, 村上安則. ソメワケササクレヤモリの終脳形成に関わる遺伝子の発現解析 第 86 回日本動物学会 (2015 年 9 月, 新潟)
- 15, 糸山達哉, 菅原由貴, 黒川大輔, 仲山慶, 村上安則. ピレンがクサフグ胚に及ぼす毒性影響と AHR との関係 第 21 回日本環境毒性学会研究発表会 (2015 年 7 月, 東京)
- 16, 糸山達哉, 土佐靖彦, 川中寅生, 村上安則. The role of FGFs and Shh signaling in the craniofacial development of Amur catfish, *Silurus asotus*. 第 48 回発生生物学会大会 (2015 年 6 月, 筑波)
- 17, 村上安則 トラザメ三叉神経感覚枝の後脳への入力: 顎の神経支配の進化的変遷 理化学研究所 CDB セミナー Shark in tree. Phyloinformatic challenges in life science. (2015 年 6 月, 神戸) **招待講演**
- 18, 糸山達哉, 土佐靖彦, 村上安則. ナマズの頭部形態形成における繊維芽細胞成長因子 (FGFs) 及びソニックヘッジホッグ (Shh) シグナルの役割 日本動物学会・中国四国地区生物系三学会合同大会 (2015 年 5 月, 愛媛)
- 19, 石川遼太, 山上沙織, 竹内政智, 土佐靖彦, 平沢達矢, 倉谷滋, 村上安則. ヤツメウナギとトラザメにおける三叉神経知覚成分の後脳への投射; 顎の神経支配の進化に関して 日本動物学会・中国四国地区生物系三学会合同大会 (2015 年 5 月, 愛媛)
- 20, 平尾綾子, 土佐靖彦, 村上安則. 羊膜類の終脳発生機構 日本動物学会・中国四国地区生物系三学会合同大会 (2015 年 5 月, 愛媛)
- 21, 村上安則 脊椎動物の脳神経系の確立と多様化に関わる分子機構 名古屋大学セミナー (2014 年 10 月, 名古屋) **招待講演**
- 22, Murakami Y. Development of the lamprey central nervous system: with reference to the vertebrate brain evolution. インドネシア、ガジャマダ大学 静物学部 特別講演 (2014 年 8 月, インドネシア) **招待講演**
- 23, Tsukano K, Fukagawa M, Kawaguchi M, Kuratani S, Murakami Y. Involvement of Slit-Robo signaling in the development of the posterior commissure and concomitant swimming behavior in *Xenopus laevis*. Euro Evo Devo 2014 (Vienna, Austria, 7 月 23 日)
- 24, Tosa Y, Hirao A, Matsubara I, Kawaguchi M, Kuratani S, Murakami Y. Development of the thalamo-DVR tract in turtles with reference to the evolution of thalamo-telencephalic projection in amniotes. Euro Evo Devo 2014 (Vienna, Austria, 7 月 23 日)
- 25, Sugahara F, Oishi Y, Pascual-Anaya J, Kuraku S, Aota SI, Adachi N, Murakami Y, Kuratani S. Brain development of the Hagfish, with reference to the vertebrate brain evolution. Euro Evo Devo 2014 (Vienna,

Austria, 7月23日)。  
26, Suzuki S, Murakami Y, Wada H. The evolutionary origin of the vertebrate midbrain. Euro Evo Devo 2014 (Vienna, Austria, 7月23日)。

〔図書〕(計 4件)

Murakami Y. The origin of vertebrate brain centers. In Brain Evolution by Design – From Neural Origin to Cognitive Architecture. (Ed. Shigeno S, Murakami Y, Nomura T. Springer Japan, 2017.

村上安則 脳の進化形態学 総ページ数 299 (2015年4月24日)

村上安則 脊椎動物の脳神経系の進化 生体の科学 特集 進化と発生からみた生命科学 医学書院 202-207, 2015.

Sugahara F, Murakami Y, Kuratani S. Gene expression analysis of lamprey embryos. In in situ hybridization methods. Neuromethods volume 99. 2015.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

NHK スペシャル「生命大躍進 第三集、ついに知性が生まれた」アドバイザーとして制作に協力(ディレクターとの打ち合わせ等)。

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者  
村上 安則 (MURAKAMI YASUNORI)  
愛媛大学・大学院理工学研究科・准教授  
研究者番号：50342861

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
野村 真 (MURAKAMI YASUNORI)  
京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究員)・准教授  
研究者番号：10323007

(4)研究協力者  
( )