

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26711023

研究課題名(和文)羊膜類における頭蓋冠相同性理論の再構築

研究課題名(英文)Revisiting the calvarial homology in amniotes

研究代表者

小薮 大輔 (Koyabu, Daisuke)

東京大学・総合研究博物館・特任助教

研究者番号：60712510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,300,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類が哺乳類型爬虫類の一群から起源した過程で、哺乳類型爬虫類において40個ほどの骨が構成していた頭蓋は哺乳類で28個の構成骨に減少した。これら10数個の骨は哺乳類に至る系統で完全に喪失したと考えられてきた。しかし、失われたと従来考えられてきた骨のいくつかは実は哺乳類でも保持されている可能性が出てきた。そこで、これらの骨は胎子期には存在しており、それらが発生の進行の過程で癒合が進むことで見かけ上の骨数が哺乳類で減ったかに見えるようになったという作業仮説を立て、その検証を行った。その結果、胎児期には祖先的爬虫類様の頭部形態がかなりの程度みられることを確認した。

研究成果の概要(英文)：During the origin of the mammals from the ancestral mammal-like reptile, the number of the skull elements decreased from about 40 to 28. More than ten bones have been regarded to be completely lost in the mammalian lineage. However, recent studies pointed out the possibility that some bones that were thought to be lost are still present in extant mammals. We hypothesized that the bones that were thought to be lost are still present in extant mammals, particularly during fetal period, and that subsequent fusions obscures the presence of some bones. In this project, we addressed this hypothesis through combing paleontology and developmental biology.

研究分野：進化形態学

キーワード：頭蓋骨 相同性 進化

1. 研究開始当初の背景

哺乳類が哺乳類型爬虫類の一群から起源した過程で、哺乳類型爬虫類において40個ほどの骨が構成していた頭蓋は哺乳類で28個の構成骨に減少した。これら10数個の骨は哺乳類に至る系統で完全に喪失したと考えられてきた。しかし、失われたと従来考えられてきた骨のいくつかは実は哺乳類でも保持されている可能性が出てきた(Koyabu et al. 2012, Proc. Nat. Acad. Sci.)。これまで、哺乳類型爬虫類の有していた頭頂間骨がそのまま哺乳類の「頭頂間骨」となり、哺乳類型爬虫類の板状骨が喪失することで、哺乳類の後頭部は成立したとされてきた(von Huene, 1912, Anat. Anz.)。しかし応募者が300種以上の哺乳類胎子と哺乳類型爬虫類化石を比較発生学的・古生物学的に検討した結果、これまで哺乳類において「頭頂間骨」とされてきた骨は実は哺乳類型爬虫類の頭頂間骨と板状骨の複合体であり、板状骨は頭頂間骨の一部として哺乳類において保存されていることが明らかになった。本研究は、従来全く疑問視されたことのない相同性理論を刷新して、哺乳類の「頭頂骨」を「板状頭頂間骨」と書き換え、世界的なインパクトを与えた。

この成果は哺乳類だけでなく四肢動物の頭蓋冠の相同性理論の全面的な再検討を迫るものでもある。祖先的な魚類の頭蓋は約140個もの骨パーツによって構成されていたとされる。そして系統発生の過程で骨数は派生系統で段階的に減少していった。例えば四肢動物の基盤的な祖先種は約90個、基盤的羊膜類(爬虫類、鳥類、哺乳類の祖先。両棲類は含まれない)では約80個、鳥類では約60個、爬虫類では約40個、哺乳類では先述のように28個に減少した(Gregory, 1935, Am. J. Phys. Anthropol.)。頭蓋におけるこの進化的な骨数減傾向はWilliston's Lawと呼ばれる。比較解剖学の一般的な解釈では、減少したこれらの骨は進化的に完全に喪失したものとされている(Sidor, 2001, Evolution)。しかし、成熟個体だけではなく個体発生を詳細に観察すると、一見進化的に喪失したと思われていた骨も発生初期には明確に確認しうることを応募者の研究は指し示した(Koyabu et al. 2012, Proc. Nat. Acad. Sci.)。この報告は同時に「鳥類、爬虫類、哺乳類で喪失したとされてきた幾つもの骨は本当に喪失しているのか?」という問いをも提起する。喪失したと想定されてきた骨は、実際には発生初期に他の骨に癒合して、成熟個体では認識が困難になっているだけなのかもしれない。また、単一の骨だと思われていた骨も、複数の骨が進化的に癒合して形成したものであるのかもしれない。仮にそうであるならば、様々な脊椎動物における各骨の解剖学名称は全面的な再定義が必要であり、従来の相同性理論は再構築を要することになる。

2. 研究の目的

本研究では羊膜類(哺乳類、爬虫類、鳥類)の頭蓋冠の骨群に従来与えられてきた解剖学名称を一度解体・忘却し、頭蓋冠の骨群の相同性理論の再構築を目指すことを目的とした。この目的を達成するため、各国博物館に収蔵されている重要化石種を検討し、頭蓋冠における骨構成の歴史の変遷を追跡する古生物学的分析、モデル生物を用い、系統間の頭蓋冠相同性を実験的に検証する発生遺伝学的分析、非モデル生物の胚を用いる比較解剖学的分析の三つの観点からの分析を計画した。

3. 研究の方法

最も基盤的な羊膜類とされ、保存状態も優れる化石種である *Seymouria* の頭蓋冠を羊膜類の基本構造として想定し、哺乳類をはじめとする派生的な羊膜類の頭蓋冠との相対的対応関係を再検討した。特に、進化的に喪失したとされてきた骨群が真に喪失しているのか、もしくはその他の骨に癒合して保存されているのか、その正否の再検証を進めた。特に、次の3つのアプローチを行った。

1. 重要化石羊膜類を古生物学的に分析し、頭蓋冠の骨構成と骨数の歴史の変遷を追跡する。

2. モデル動物を用いた実験発生学的アプローチによって、各骨の形成の分子的背景を解明するとともに、脳、各領域・筋肉・末梢神経・血管に対する各骨の位置関係を把握する。

3. 非モデル動物の胚標本を用いて脳、各領域・筋肉・末梢神経・血管に対する各骨の位置関係を把握する。

4. 研究成果

共同研究先である理化学研究所において、羊膜類脊椎動物(マウス・ニワトリ)を材料として、実験発生学的手法を用いて頭蓋冠における骨、軟骨、筋肉、脳、末梢神経、各形態パーツ相互の相対的位置関係を検討した。本科研費によって蛍光顕微鏡機器を導入したため胚発生における遺伝子発現の観察が可能になった。理化学研究所にて頭蓋骨の縫合に形成・促進に関連する遺伝子 *Ptch1*, *TGfbr2*, *Fgfr2*, *Dlx5*, *Ihh* 遺伝子のプロンプを用いてマウス胎子に対して *in situ* ハイブリダイゼーション染色を行った。また妊娠マウスより E11.5~E17.5 ステージの胎子を各種採材し、先述のプロンプを用いてホールマウントおよび連続切片での *in situ* ハイブリダイゼーション法による染色を進めた。また連続切片を川本法による回収を行い、その後ヘマトキシリン=エオシン染色によって神経、軟骨、骨、筋肉等の染色を行った。Amira ソフトウェアを用いて頭蓋冠における骨、軟骨、筋肉、脳、末梢神経、血管の発生過程、各形態パーツの三次元的位置関係をコンピュータ内で再構築した。

また、人体発生の研究を本学教育学部と京都大学医学研究科と進め、人体における頭骨の

骨化・成長・縫合の過程の三次元的な把握を開始した。人体発生も視野に入ってきたことで、哺乳類全体における頭骨発生の統合的理解にさらに近づいたと期待される。さらに、北海道等で野外捕獲を継続し、小動物胎子の収集につとめた。また、オーストラリアおよびシンガポールにて現地自然史博物館に収蔵されている哺乳類の胎子標本の観察を行い、胎子期における頭蓋骨形成の種間変異の分析を進め、スペインではバレンシア大学にて共同研究者とともに頭蓋骨の各骨パーツの発生と癒合の数理的パターンの分析をした。これらを踏まえ *Seymouria* の頭蓋冠と羊膜類の基本構造と哺乳類をはじめとする派生的な羊膜類の頭蓋冠との相対的対応関係を再検討した。その結果、頭頂間骨だけでなく、前前頭骨、後前頭骨、隔額骨と目される骨が現生胎子期には確認できた。これらの骨は従来哺乳類で喪失したと考えられてきたが、現生哺乳類でも残存していることが示唆された。

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 19 件)

1. Nojiri, T., Werneburg, I., Son, N.T., Tu, V.T., Sasaki, T., Maekawa, Y., Koyabu, D.* Prenatal cranial bone development of Thomas's horseshoe bat (*Rhinolophus thomasi*): with special reference to petrosal morphology. *Journal of Morphology* (in press). 査読有
2. Ito, T.*, Koyabu, D. Biogeographic variation in skull morphology across the Kra Isthmus in dusky leaf monkeys. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* (in press). 査読有
3. Koyabu, D.*, Hosojima, M., Endo, H. Into the dark: patterns of middle ear adaptations in subterranean eulipotyphlan mammals. *Royal Society Open Science* 4: 170608 (2017). 査読有
4. Oh, J.W., Oh, H.S., Kimura, J.*, Koyabu, D.* Intraspecific variation of the interparietal suture closure in Siberian roe deer *Capreolus pygargus* from Jeju Island. *Journal of Veterinary Medical Science* 79: 2052–2056 (2017). 査読有
5. Endo, H.*, Ito, K., Watabe, H., Son, N.T., Koyabu, D. Macroscopic and CT examinations of the mastication mechanism in the southern tamandua. *Mammal Study* 42: 89-96 (2017). 査読有
6. Koyabu, D.* 3D atlas and comparative osteology of the middle ear ossicles among Eulipotyphla (Mammalia, Placentalia). *Morphomuseum* 3 (2)-e3 (2017). 査読有
7. Koyabu, D.* Prenatal postcranial development in two species of sympatric Japanese wood mice (*Apodemus argenteus* and *A. speciosus*): a comparison of arboreal versus terrestrial congeners. *Journal of Veterinary Medical Science* 79: 952-956 (2017). 査読有
8. Oh, J.W., Kim, Y.K., Yasuda, M., Koyabu, D.*, Kimura, J. Cranial suture closure pattern in water deer and implications of suture evolution in cervids. *Mammalian Biology* 86:17-20 (2017). 査読有
9. Werneburg, I.*, Laurin, M., Koyabu, D., Sánchez-Villagra, M.R.* Evolution of organogenesis and the origin of altriciality in mammals. *Evolution and Development* 18(4):229–244 (2016). 査読有
10. Ramírez-Chaves, H.*, Wroe, S., Selwood, L., Hinds, L., Leigh C., Koyabu, D., Kardjilov, N., Weisbecker, V.* Mammalian development does not recapitulate suspected key transformations in the evolution of the mammalian middle ear. *Proceedings of the Royal Society B* 283: 20152606 (2016). 査読有
11. Kim, Y.K., Koyabu, D., Lee, H., Kimura, J.* Cranial morphological homogeneity in two subspecies of water deer in China and Korea. *Journal of Veterinary Medical Science* 77: 1427–1435 (2015). 査読有
12. Omura, A.*, Anzai, W., Koyabu, D., Endo, H. Positional strategy of trunk muscles among aquatic, semi-aquatic, and terrestrial species in Urodela. *Journal of Veterinary Medical Science* 77: 1043–1048 (2015). 査読有
13. Omura, A.*, Anzai, W., Koyabu, D., Endo, H. Ontogenetic changes of trunk muscle structure in the Japanese black salamander (*Hynobius nigrescens*). *Journal of Veterinary Medical Science* 77: 931-936 (2015). 査読有
14. Mori, K.*, Suzuki S., Koyabu, D., Kimura, J., Han, S.Y., Endo, H. Comparative functional anatomy of hindlimb muscles and bones with reference to aquatic

adaptation of the sea otter. *Journal of Veterinary Medical Science* 77: 571–578 (2015). 査読有

15. Koyabu, D.*, Son, N.T. Patterns of postcranial ossification and sequence heterochrony in bats: life histories and developmental trade-offs. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 322: 607–618 (2014). 査読有
16. Endo, H.*, Yamasaki, T., Mori, K., Kudo, K., Koyabu, D. Functional morphology of the enlarged pharynx and hyoid bone of the shrew. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 19(1): 21-25 (2014). 査読有
17. Koyabu, D.*, Werneburg, I., Morimoto, N., Zollikofer, C.P.E., Forasiepi, A.M., Endo, H., Kimura, J., Ohdachi, S.D., Son, N.T., Sánchez-Villagra, M.R. Mammalian skull heterochrony reveals modular evolution and a link between cranial development and brain size. *Nature Communications* 5: 365 (2014). 査読有
18. Omura A.*, Ejima, K., Honda, K., Anzai, W., Taguchi, Y., Koyabu, D., Endo, H. Locomotion pattern and trunk musculoskeletal architecture among Urodela. *Acta Zoologica* 96: 225–235 (2014). 査読有
19. Geiger, M.*, Forasiepi, A.M., Koyabu, D., Sánchez-Villagra, M.R. Heterochrony and postnatal growth in mammals - an examination of growth plates in limbs. *Journal of Evolutionary Biology* 27: 98–115 (2014). 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Koyabu, D. On the interparietal and supraoccipital: the development of the mammalian skull roof and its coevolution with the brain. *International Congress of Vertebrate Morphology*, 2016.
2. Koyabu, D., Sánchez-Villagra, M. Evolution of fetal skeletogenesis in mammals: patterns, diversity, and modularity. *International Congress of Vertebrate Morphology*, 2016.
3. Köhler, M., Koyabu, D., Orlandi-Oliveras, G., Jordana, X. Bone histology of an extant representative of insular mammals: the Amami rabbit (*Pentalagus furnessi*)., 3rd International Symposium on Paleohistology, 2015.
4. Koyabu, D. Heterochrony in mammal skull development., *Perspectives on EvoDevo*:

The Skull as a Case Study, 2014.

5. Koyabu, D., Werneburg, I., Sánchez-Villagra, M. Macroevolutionary patterns in mammalian craniogenesis reveals modular evolution and a link between cranial development and brain size. *Annual Meeting of Society of Vertebrate Paleontology*, 2014.
6. Koyabu, D. ‘Fritz-Frank Award lecture: Evolutionary embryology of the mammalian skull: macroevolution and Homology’ *Annual Meeting of German Society of Mammalogy*, 2014.

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/daisukekoyabu/publications>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

小藪 大輔 (KOYABU, Daisuke)

東京大学総合研究博物館・特任助教

研究者番号：60712510