

平成23年 3 月 25 日現在

機関番号： 82401  
 研究種目： 若手研究(B)  
 研究期間： 2009～2010  
 課題番号： 21770259  
 研究課題名(和文)  
 哺乳類中耳の形態進化を分子発生的に解明する  
 研究課題名(英文) Molecular developmental study of the mammalian middle ear evolution

## 研究代表者

武智 正樹 (TAKECHI MASAKI)

独立行政法人理化学研究所・形態進化研究グループ・研究員

研究者番号：10455355

研究成果の概要(和文)：まず過去の比較形態学の見解と近年の分子発生的学や古生物学の知見をまとめて整理した総説を発表し、この形態進化を理解するために最も重要な問題は「哺乳類が下顎領域に鼓膜を形成したメカニズムを解明すること」であることを提起した。次にニワトリとマウスの顎・中耳領域の胚発生を詳細に調べたところ、哺乳類の鼓膜が下顎領域に形成されたのは、一次顎関節が中耳腔に対して背側に発生位置をシフトさせたためであることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We reviewed previous comparative morphological and molecular developmental studies regarding the evolution of the mammalian middle ear and proposed that the most important issue in the evolution is “How did the tympanic membrane form in the lower jaw domain in the mammalian ancestor?” (Takechi and Kuratani, 2010). We next examined chicken and mouse embryos to identify mammal-specific developmental events which led the tympanic membrane in the lower jaw domain. Our data suggested that a dorsal shift of the primary jaw joint (articulation in the quadrate and articular) with respect to the first pharyngeal pouch in the mammalian ancestor led the tympanic membrane in the lower jaw domain.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,400,000
総計	2,100,000	630,000	2,700,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：中耳、中耳腔、耳小骨、咽頭弓、顎骨弓、一次顎関節、形態進化、Evo-Devo

## 1. 研究開始当初の背景

哺乳類を定義する最も重要な形態形質は「中耳に3つの耳小骨をもつこと」であり、これは「胎盤をもつ」等の形質とは異なり、他の

動物群には決して見られない哺乳類独自の特徴である。中耳は耳小骨とそれらに付着する鼓膜から成り、外界の音情報を内耳に効率よく伝える。化石記録によると、原始的な羊膜類は中耳をもって

おらず（下顎を地面につけて得られた振動を内耳に伝えていた）、爬虫類と哺乳類のそれぞれの系統で独立に中耳を獲得したと考えられている。しかし両者の中耳の形態的構造は著しく異なるため、両者は全く別の方法で中耳を進化させたことが示唆されている。爬虫類の中耳には1つの耳小骨（耳小柱）しかないが、哺乳類にはツチ骨、キヌタ骨、アブミ骨の3耳小骨がある。驚くべきことにこのうちツチ骨とキヌタ骨はもともと顎関節を構成していた骨であった。このような哺乳類頭蓋の劇的な形態進化は19世紀初頭より多くの研究者を魅了し、多くの化石記録や比較解剖学による知見が蓄積されてきた。

過去の比較形態学から脊椎動物の頭蓋における各骨の相同性が明らかになっている。原始的な羊膜類では顎関節（方形骨と関節骨）は内側で舌顎骨と関節してこれに支えられていた。爬虫類では顎関節が舌顎骨から腹側（吻側）に遊離し、舌顎骨が耳小柱に変化してそこに鼓膜を張るようになった。一方で、哺乳類の系統では方形骨・関節骨と舌顎骨の関節は維持されたまま3つの骨が中耳に取り込まれ、下顎の一部であった歯骨が拡大し新しい顎関節を形成した。従って哺乳類の耳小骨のうち、アブミ骨が爬虫類の耳小柱と相同であり、キヌタ骨とツチ骨がそれぞれ顎関節であった方形骨と関節骨に相同である。このように哺乳類の中耳を構成する各々の骨格成分の相同性は明確にされている一方で、鼓膜は爬虫類では上顎の顎関節である方形骨に、哺乳類ではもともと下顎の顎関節であったツチ骨に付着する。従って鼓膜は他の形態要素との位置関係が異なるため、爬虫類と哺乳類において相同ではないことが長い間指摘されている。

## 2. 研究の目的

中耳は形態進化研究の中でも最も注目されてきた形質の1つであり、他に類を見ない膨大な過去の知見がある。この過去の知見にマウス（哺乳類）とニワトリ（爬虫類）というモデル生物を用いた現代の分子発生学を融合して総合的にこの形態進化を理解したいと考えた。

## 3. 研究の方法

(1) 取り組むべき問題を明確にするため、哺乳類中耳の形態進化に関与する過去の比較形態学や、近年の分子発生学や古生物学の知見をまとめて整理した総説を発表した。

(2) 脊椎動物における顎・中耳領域の発生プログラムを解析するため、*Hoxa-2* ノックアウトマウスの詳細な解剖学的解析を行った。

(3) ニワトリとマウスの顎・中耳領域の胚発生を詳細に調べて比較した。

## 4. 研究成果

(1) まず複雑な解剖学的構造を有する哺乳類中耳を理解するため、マウスとニワトリの後期胚における顎・中耳領域の組織切片を作製し、3次元再構築ソフトウェア (Avizo) を用いて3次元再構築を行った (図1)。次に中耳の形態進化に関する比較形態学の歴史、古生物学的証拠、さらには近年の分子発生学の知見をまとめて整理した総説を発表し、この形態進化を理解するために取り組むべき最も重要な問題は「哺乳類が下顎領域に鼓膜を形成したメカニズムを解明すること」であることを提起した。

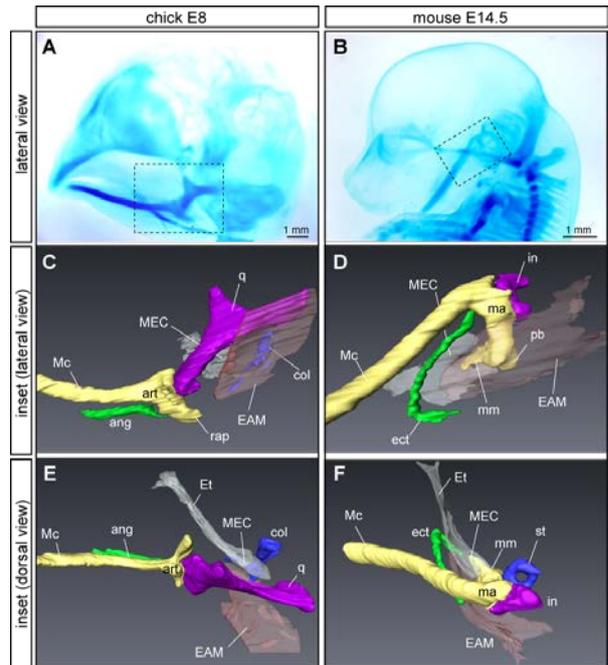


図1 ニワトリ8日胚とマウス14.5日胚における顎・中耳領域の3次元再構築。

(2) 脊椎動物における顎・中耳領域の発生プログラムを解析するため、*Hoxa-2* ノックアウトマウスの詳細な解剖学的解析を行った。このマウスではツチ骨、キヌタ骨と内下顎内転筋群（内側翼突筋・鼓膜張筋・口蓋帆張筋）が第2咽頭弓に重複して形成されるが、歯骨とそれに付着する外下顎内転筋群（咬筋・側頭筋・外側翼突筋）は重複しないことを明らかにした。このことから、第1咽頭弓においては、*Hoxa-2* ノックアウトマウスにおいて重複した形態要素とそれ以外の要素の発生プログラムは異なることが強く示唆された。

(3) ①過去の比較形態学においては、哺乳類の鼓膜が下顎領域に形成されるのは「中耳腔が発生過程で腹側に膨出するためである」と説明されてきた。私はこの学説を検証するため、ニワトリとマウスの顎・中耳領域の胚発生を詳細に調べた。この際、初期～後期胚の解剖学的構成要素の発生過程を簡便に3次元再構築化する方法を開発した。具体的には、胚1個体分を組織切片化し、*in situ* hybridization（軟骨マーカー：*Aggrecan* あるいは筋肉マーカー：*MyoD* で染色）と神経の免疫染色

(HNK-1) の 2 重染色を行った。これらの組織切片を 3 次元再構築ソフトウェア (Avizo) を用いて立体化した (図 2 に一例を示す)。このような解析の結果、哺乳類の中耳腔の発生は他の羊膜類と同様であり、むしろ *Hoxa-2* ノックアウトマウスで重複が見られた形態要素群のみが他の羊膜類より著しく背側に発生し、それに伴い鼓索神経の走行も大きく変化していることを明らかにした。

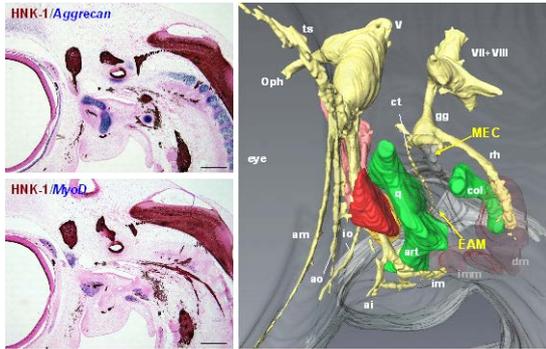


図 2 (左) ニワトリステージ HH28 胚の組織学切片に対する *in situ* hybridization と免疫染色の 2 重染色。(右) 組織学切片のシグナルをもとに顎・中耳領域の発生を 3 次元再構築化したもの。スケール=500  $\mu$ m

②咽頭弓発生時における下顎パターン遺伝子 (Fgf, Bmp, Endothelin1 とその下流遺伝子群) の発現パターンを調べたところ、マウスの遺伝子はニワトリに比べて中耳腔に対してより背側に発現することがわかった (図 3)。以上のことから、哺乳類で鼓膜が下顎領域に形成されるのは中耳腔が腹側に膨出するからではなく、下顎形態要素の一部が背側に発生するからであり、下顎パターン遺伝子発現の異所的な変化がその要因であることが示唆された。

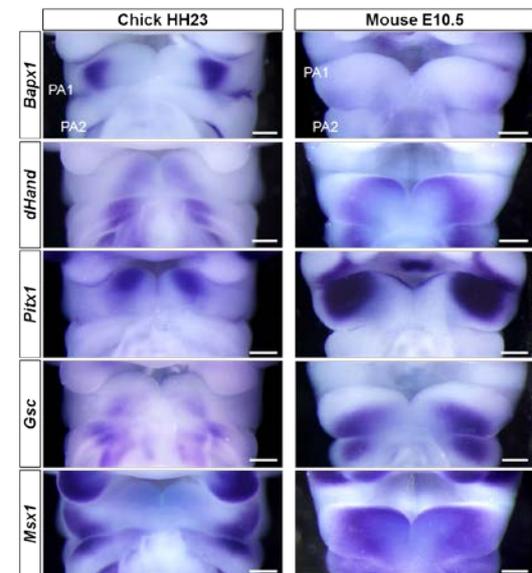


図 3 ニワトリステージ HH23 胚とマウス 10.5

日胚における顎パターン遺伝子の発現パターンを腹側から見たもの。

## 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 2 件)

①武智正樹、倉谷滋「哺乳類における顎と中耳の発生と進化」エナメル質比較発生学懇話会記録、11号 26-44 頁、2010 年 (査読無)

②Takechi, M. and Kuratani, S. History of studies on mammalian middle ear evolution: A comparative morphological and developmental biology perspective. *Journal of Experimental Zoology (Mol. Dev. Evol.)*, 314: 417-433, 2010 (査読有)

[学会発表] (計 16 件)

①Takechi, M., Hirai, T., Adachi, N., Hirasawa, T., Kuratani, S. Comparative Embryological Study of the Mammalian Middle Ear Evolution. 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会、パシフィコ横浜、2011 年 3 月 28 日

②Takechi, M., Hirai, T., Adachi, N., Hirasawa, T., Kuratani, S. Molecular Developmental Study of the Mammalian Middle Ear Evolution. The 20th CDB meeting: Molecular Bases for Evolution of Complex Traits, 2011, February 23rd, Kobe, Japan.

③武智正樹「発生学者、古生物学に会う」第 3 回 Evo-Devo 青年の会「器官形成の進化的理解に向けて」2010 年 11 月 27 日、東京慈恵医大学

④武智正樹「脊椎動物のかたちづくりの発生と進化 ~聴覚器官の形態進化を例に~」新潟大学医研究科 第 2 回肉眼解剖学・形態形成学セミナー、新潟大学、2010 年 8 月 20 日

⑤Takechi, M., Hirai, T., Kuratani, S. Comparative Embryological Study for Understanding of the Mammalian Middle Ear Evolution. 9th International Congress of Vertebrate Morphology, July 28th, 2010, Punta del Este, Uruguay.

⑥Takechi, M., Hirai, T., Kuratani, S. Comparative Developmental Study for Understanding of the Mammalian Middle Ear Evolution. 3rd meeting of the European society for evolutionary developmental biology, July 7th, 2010, Paris, France.

⑦武智正樹「脊椎動物頭部と顎の進化と発生」九州大学歯学部 小児歯科学 2010年4月8日 九州大学 馬出地区キャンパス

⑦Takechi, M., Hirai, T., Kuratani, S. Molecular Developmental Study for Understanding of the Mammalian Middle Ear Evolution. CDB Symposium, Frontiers in Organogenesis, March 24th, 2010, Kobe, Japan.

⑧武智正樹、平井珠美、倉谷滋「哺乳類の中耳はどのようにして顎関節から進化したのか？」第115回日本解剖学会総会・全国学術集会、2010年3月29日、岩手県民会館

⑨武智正樹「脊椎動物における顎の進化」第115回日本解剖学会総会・全国学術集会 シンポジウム、2010年3月29日、岩手県民会館

⑩武智正樹「我々の耳小骨はどのようにして3つになったのか？」第328回医学研究の基礎を語り合う集い、2010年3月26日、東京慈恵会医科大学

⑪武智正樹「脊椎動物の「かたち」を比較する～哺乳類中耳の形態進化を例に～」第3回甲南大学生物学科シンポジウム、2010年1月13日、甲南大学

⑫武智正樹「脊椎動物の顎の進化」日本大学松戸歯学部 大学院セミナー、2009年12月28日、日本大学

⑬武智正樹「哺乳類中耳の形態進化」日本動物学会第80回大会 関連集会 第1回 Evo-Devo 青年の会 2009年9月17日、グランシップ静岡

⑭武智正樹、平井珠美、倉谷滋 「哺乳類の中耳はどのようにして顎関節から進化したのか？」日本動物学会第80回大会、2009年9月17日、グランシップ静岡

⑮Takechi, M., Hirai, T., Kuratani, S. "How did mammals evolve the middle ear from the jaw joint?: From the standpoint of Evo-Devo" 日本発生生物学会第42回大会、2009年5月29日、新潟朱鷺メッセ

⑯Takechi, M. and Kuratani, S. Evolution and development of the mammalian middle ear. The 18th CDB meeting: Common themes and new concepts in sensory formation, April 13rd 2009, Kobe, Japan.

[その他]  
ホームページ等

<http://www.cdb.riken.jp/emo/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

武智 正樹 (TAKECHI MASAKI)

独立行政法人理化学研究所・形態進化研究グループ・研究員

10455355

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし